



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología

**Actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro
estabilizado en flora mixta de dorso de lengua**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Betty Yuliana GUZMÁN VAZQUEZ

ASESOR

Elba Estefanía MARTÍNEZ CADILLO

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Guzmán B. Actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela Profesional de Odontología; 2017.

1537

10-114



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
VICE DECANATO ACADÉMICO
UNIDAD DE ASESORÍA Y ORIENTACIÓN DEL ESTUDIANTE



ACTA

Los Docentes que suscriben, reunidos el veintiuno de diciembre del 2017, por encargo de la Sra. Decana de la Facultad, con el objeto de constituir el Jurado de Sustentación para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista de la Bachiller :

GUZMÁN VAZQUEZ, Betty Yuliana /

CERTIFICAN:

Que, luego de la Sustentación de la Tesis «**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO EN FLORA MIXTA DE DORSO DE LENGUA**» y habiendo absuelto las preguntas formuladas, demuestra un grado de aprovechamiento: **SOBRESALIENTE** , siendo calificado con un promedio de: **DIECIOCHO** **18**
(en letras) (en números)

En tal virtud, firmamos en la Ciudad Universitaria, a los veintiún días del mes de diciembre del dos mil diecisiete.

PRESIDENTE DEL JURADO

Mg. Blg°. **Hilda Moromi Nakata**

MIEMBRO

Mg. Blg°. **Sofía Belinda Espinoza Escajadillo**

MIEMBRO (ASESOR)

Blg°. Elba Estefanía Martínez Cadillo

Escala de calificación: Grado de Aprovechamiento:

Sobresaliente (18-20), Bueno (15-17), Regular (12-14), Desaprobado (11 ó menos)

Criterios : Originalidad, Exposición, Dominio del Tema, Respuestas.

JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

PRESIDENTE: **Mg. Blg^o. Hilda Moromi Nakata**

MIEMBRO: **Mg. Blg^o. Sofía Belinda Espinoza Escajadillo**

MIEMBRO ASESOR: **Blg^o. Elba Estefanía Martínez Cadillo**

A Dios por su infinito amor y ayuda para superar mis obstáculos.

A mi esposo Guillermo por brindarme su apoyo, comprensión y amor incondicional durante la elaboración de la presente investigación y en nuestro día a día.

A mi hija Stephanie por llenar mi vida de amor y valentía siendo la fuerza que me inspira a seguir creciendo como profesional y ser humano.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater “Universidad Nacional Mayor de San Marcos” porque me dio una vivienda en la Residencia Universitaria durante los seis años de mi carrera, siendo la madre de mis conocimientos y mi realización profesional.

A los docentes de la Facultad de Odontología, quienes guiaron mi proceso de aprendizaje y son un ejemplo de esfuerzo, constancia y superación.

A mi asesora, Blg^o. Elba Estefanía Martínez Cadillo, por su paciencia, motivación y guía durante la elaboración de la presente investigación, y además por encontrar en ella una maestra y amiga.

Al Mg. Q.F. Luis Miguel Visitación Félix Veliz, Vicedecano Académico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su asesoría y ayuda desinteresada en la elaboración de las diluciones de dióxido de cloro estabilizado realizadas en la presente investigación.

Al Mg. Blg^o. Hilda Moromi Nakata, docente de la cátedra de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su orientación y consejos en la realización de la presente investigación.

Al Mg. Blg^o. Sofía Belinda Espinoza Escajadillo, docente de la cátedra de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su apoyo y orientación en el desarrollo de la presente investigación.

Al Dr. C.D. Manuel Antonio Mattos Vela, por su tiempo y aportes en el procesamiento de datos y análisis estadístico de la presente investigación.

A la Srta. Violeta Chavesta Velásquez y a la Srta. Luz Elena Aquino Aguilar, Técnicas del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su colaboración durante la ejecución de la presente investigación.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua, para lo cual se empleó el método de Test de Difusión en Agar.

La flora mixta del dorso de la lengua fue obtenida de las muestras tomadas a 18 pacientes sanos y mayores de edad atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La solución de dióxido de cloro estabilizado al 5 % fue obtenido de la empresa peruana Juandy E.I.R.L y las diluciones usadas fueron al 0,03 %, 0,12 % y al 0,30 %.

Los resultados de las diluciones al 0,03 % y al 0,12% indicaron una sensibilidad nula (5 mm.) tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis facultativa en el 100 % de los casos; y sensibilidad límite (9-12 mm.) para las diluciones al 0,30 %, en condiciones de aerobiosis fue 50 % de los casos y en condiciones de anaerobiosis facultativa fue 39% de los casos. Los resultados determinaron que a partir de una concentración al 0,30 % de dióxido de cloro estabilizado hay actividad antimicrobiana por el método de Test de difusión en Agar.

Por lo tanto se concluye, que el dióxido de cloro estabilizado sí presenta una actividad antimicrobiana en flora mixta de dorso de lengua a la concentración de 0,30 %, presentando una sensibilidad límite según Duraffourd.

PALABRAS CLAVE: Dióxido de cloro estabilizado, antimicrobiano, flora, lengua.

ABSTRACT

The objective of the study was to determinate the activity antimicrobial in vitro of stabilized chlorine dioxide in mixed flora from dorsum of the tongue, for which the method used was diffusion test in agar.

The mixed flora of the back of the tongue was obtained from the samples taken from 18 healthy and elderly patients treated at the Dental School of the National University of San Marcos. The solution stabilized chlorine dioxide 5 % was obtained from the Peruvian company Juandy E.I.R.L and the dilutions used were 0,03 %, 0,12 % and 0,30 %.

The results of the 0,03 % and 0,12 % dilutions indicated a null sensitivity (5 mm.) in both aerobic and facultative anaerobic conditions in 100 % of the cases; and limit sensitivity (9-12 mm.) for dilutions at 0.30 %, under aerobic conditions was 50 % of the cases and in conditions of facultative anaerobic was 39% of cases. The results determined that from a concentration of 0,30 % stabilized chlorine dioxide has antimicrobial activity by the diffusion test method in agar.

Therefore, it is concluded that the stabilized chlorine dioxide presents an antimicrobial activity in mixed flora of back of tongue at the concentration of 0,30 %, presenting a limit sensitivity according to Duraffourd.

KEYWORDS: Stabilized chlorine dioxide, antimicrobial, flora, tongue.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
2.1. Área del problema.....	10
2.2. Delimitación del problema	11
2.3. Formulación del problema.....	12
2.4. Justificación.....	12
2.5. Objetivos de investigación	13
2.5.1. Objetivo general	13
2.5.2. Objetivos específicos	13
2.6. Limitaciones.....	13
III. MARCO TEÓRICO	15
3.1. Antecedentes.....	15
3.2. Bases teóricas.....	29
3.2.1. Ecología de la cavidad bucal.....	29
3.2.1.1. Origen y desarrollo de la microbiota bucal	30
3.2.1.2. Las biopelículas y su potencial patogénico	30
3.2.1.3. Géneros y especies microbianas presentes en la cavidad bucal	32
3.2.2. El dorso de la lengua	33
3.2.3. Agentes para el control químico de la biopelícula	33
3.2.3.1. Clorhexidina	33
3.2.3.2. Cloritos de sodio acidificados	34
3.2.4. Dióxido de cloro	35
3.2.4.1. Historia del dióxido de cloro.....	35
3.2.4.2. La estructura del dióxido de cloro	36
3.2.4.3. Características del dióxido de cloro	38
3.2.4.4. Mecanismos de acción del dióxido de cloro	38
3.2.4.5. Producción del dióxido de cloro	40
3.2.4.6. Áreas de aplicación de dióxido de cloro.....	42
3.2.4.7. Toxicidad del dióxido de cloro y clorito	47
IV. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	53
4.1. Formulación de la hipótesis	53
4.2. Variables de estudio	53
4.3. Operacionalización de variables	54

V. DISEÑO METODOLÓGICO	55
5.1. Tipo de investigación	55
5.2. Población y muestra	55
5.2.1. Población	55
5.2.2. Muestra	55
5.2.3. Selección de la muestra	55
5.2.4. Criterios de inclusión	55
5.2.5. Criterios de exclusión	56
5.3. Materiales	56
5.4. Método	57
5.4.1. Instrumento	57
5.4.2. Procedimientos y técnicas	57
5.4.3. Recolección de datos	61
5.5. Plan de tabulación y análisis estadístico	61
VI. RESULTADOS	62
VII. DISCUSIÓN	73
VIII. CONCLUSIONES	76
IX. RECOMENDACIONES	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS	87
Anexo 1: Información del estudio y formulario de consentimiento	87
Anexo 2: Ficha de recolección de datos para condiciones de aerobiosis	89
Anexo 3: Ficha de recolección de datos para condiciones de anaerobiosis facultativa	90
Anexo 4: Ficha técnica del dióxido de cloro estabilizado	91
Anexo 5: Hoja de seguridad del dióxido de cloro estabilizado	94
Anexo 6: Certificado de las tiras reactivas para dióxido de cloro	99
Anexo 7: Fluxograma de procedimientos y técnicas	100
Anexo 8: Registro fotográfico	103
Anexo 9: Estadísticos utilizados	113

I. INTRODUCCIÓN

La microbiota de la cavidad oral alberga numerosas especies bacterianas y en particular la lengua, específicamente el dorso de la lengua, es uno de los nichos más complejos en la ecología humana dada sus características propias de humedad, porosidad y presencia de fisuras, donde aproximadamente un tercio de la población bacteriana de la cavidad oral se encuentra en ella. En individuos sanos que se quejan de mal aliento, el dorso de la lengua es la principal fuente de su mal olor ya que la biopelícula que se desarrolla en la lengua libera compuestos de azufre volátiles. Además el dorso de la lengua puede servir como reservorio para la infección o reinfección de la placa supragingival y subgingival con presencia de patógenos periodontales. Frente a tal problemática, es necesario buscar un antiséptico idóneo que sea efectivo contra los patógenos; pero que su uso a largo plazo no sea dañino durante la práctica diaria de la higiene dental.

El dióxido de cloro es un agente antimicrobiano, considerado como el antiséptico local ideal, por tal motivo se viene investigando en el campo de la odontología desde hace ya varios años.

La presente investigación se realiza con el fin de conocer si existe actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en la flora mixta del dorso de la lengua, para ello se recurre al método de difusión en Agar, donde a partir de los resultados obtenidos se podría determinar si el dióxido de cloro estabilizado serviría para su uso como agente activo en productos de cuidado dental.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. Área del problema

En la cavidad oral se han detectado más de 700 especies bacterianas o filotipos.¹ Debido a su característica propia de humedad y temperatura, la boca proporciona un entorno adecuado para la colonización de complejas comunidades bacterianas, las cuales originan la biopelícula de la placa dental tanto en las superficies duras de los dientes como en los tejidos blandos del sistema estomatognático.²

La microbiota de la superficie de la lengua es uno de los nichos más complejos en la ecología humana, y aproximadamente un tercio de la población bacteriana de la cavidad oral se encuentra en la lengua. El dorso de la lengua puede servir como reservorio para la infección o reinfección de la placa supragingival y subgingival con patógenos periodontales, y también influiría en la halitosis oral.³ La biopelícula que reviste la lengua tiene un papel importante en la producción de compuestos de azufre volátiles (VSC), que en combinación con los desechos de las bacterias provocan el mal aliento.⁴

La biopelícula de la superficie de la lengua formada con restos de alimentos y bacterias, también facilita el crecimiento de la levadura *Candida*. Especies de *Candida* habitan normalmente en la cavidad oral; pero si hay un aumento excesivo, indicaría el deterioro del medio ambiente bucal debido a un compromiso inmune, envejecimiento, cáncer, disminución de la salivación, enfermedad periodontal, uso de esteroides y al uso de antibióticos.⁵

Por lo anteriormente descrito, es de vital importancia la prevención con el uso de diversas medidas para el control mecánico y químico de la placa dental.⁶ Entre los agentes químicos para el control de la placa, el digluconato de clorhexidina se considera como el estándar de oro por su eficacia contra la placa dental.⁷ Sin

embargo, hay efectos secundarios asociados a su uso prolongado, tales como manchas extrínsecas de los dientes, disgeusia, mucositis oral y atresia de la glándula salival.⁸

El dióxido de cloro (ClO_2) es un agente oxidante con propiedades bactericidas, viricidas y fungicidas conocidas hace más de veinte años. Inhibe el crecimiento de microorganismos por la interrupción del transporte de nutrientes a través de la membrana celular. El dióxido de cloro (ClO_2) consume oxidativamente e inactiva biomoléculas salivales, incluyendo Piruvato, Metionina, Trimetilamina, Tirosina y Glicina ejerciendo de este modo su efecto antimicrobiano. Un producto de la reducción del dióxido de cloro, es el clorito que también actúa como un agente oxidante frente a las biomoléculas como tioles endógenos tales como cisteína.⁹

2.2. Delimitación del problema

El dióxido de cloro es altamente soluble en agua, puede penetrar rápidamente en la biopelícula y ejercer su acción antimicrobiana. Una ventaja práctica del dióxido de cloro es su volatilidad, es decir, lo ideal es que un antiséptico local sólo permanezca hasta que los microbios patógenos mueran, cuando ya estén muertos la presencia de cualquier antiséptico local no sólo es innecesaria, sino que puede ser incluso perjudicial, ya que puede impedir el proceso de curación.⁹

Por otra parte, es importante mencionar que el informe de la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades ¹⁰ establece que el dióxido de cloro no es carcinógeno y tampoco es un alérgeno.

En diversos estudios se ha probado la efectividad antimicrobiana del dióxido de cloro,¹¹⁻²⁰ siendo una excelente alternativa frente a los agentes activos usados comúnmente en diferentes colutorios tales como la clorhexidina cuyo uso prolongado provoca tinción en los dientes, alteración del gusto y la descamación o dolor de la

mucosa oral; el triclosán del cual se sospecha que puede causar cepas resistentes de bacterias y dermatitis alérgica de contacto; y en enjuagues bucales de cloruro de cetilpiridinio se ha encontrado que causa manchas en los dientes y sensación de ardor.¹¹ Actualmente en otros países utilizan como ingrediente activo al dióxido de cloro en una variedad de productos de higiene oral.²¹⁻²⁶

2.3. Formulación del problema

¿Existe actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta del dorso de la lengua?

2.4. Justificación

Para el adecuado control de la biopelícula bacteriana y que las bacterias existentes en ella no rompan su equilibrio y originen enfermedades de importancia odontológica, es necesario el adecuado uso de productos para la higiene bucal, siendo el dióxido de cloro (ClO_2) un prometedor agente antimicrobiano y antiséptico local que puede incluirse como ingrediente activo en colutorios, pastas dentífricas y geles dentales.

Podemos resaltar que el dióxido de cloro (ClO_2) es un biocida altamente eficaz de amplio espectro y a una dosificación muy baja, no crea enlaces orgánicos ni trihalometanos carcinógenos, las bacterias no son capaces de desarrollar resistencia contra el dióxido de cloro (ClO_2) ya que reacciona con tioles biológicos que desempeñan un papel vital en todos los organismos vivos, es capaz de penetrar la biopelícula y actuar de manera selectiva contra los microorganismos en función a un pH ácido y al tamaño, no es tóxico a concentraciones adecuadas y comparado con la clorhexidina presenta pocos o ningún efecto secundario asociado a su uso.

Se hace necesario profundizar en este tipo de estudios científicos en el marco de nuestra realidad nacional, en donde no existen trabajos de investigación al respecto, que nos permitan dilucidar resultados concluyentes.

2.5. Objetivos de investigación

2.5.1. Objetivo general

- Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en tres concentraciones en la flora mixta del dorso de la lengua en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis facultativa.

2.5.2. Objetivos específicos

- Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado al 0,30 % en flora mixta del dorso de la lengua a las 24 horas.
- Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado al 0,12 % en flora mixta del dorso de la lengua a las 24 horas.
- Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado al 0,03 % sobre flora mixta del dorso de la lengua a las 24 horas.
- Comparar la actividad antimicrobiana del dióxido de cloro estabilizado al 0,30 %, 0,12 % y 0,03 % entre sí, y con los controles: positivo y negativo.

2.6. Limitaciones

- La cantidad de pacientes que incluye la muestra no fue muy amplia como para poder generalizar datos.
- Dada la naturaleza del presente estudio, experimental *in vitro*, los microorganismos de la flora mixta del dorso de la lengua se desarrollaron en

condiciones ambientales simuladas en el laboratorio; a diferencia de los demás factores que pueden influir en las condiciones *in vivo*.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes

Grootveld M. et al. (2001)²⁷ investigaron la capacidad de una preparación de enjuague bucal, que contiene una mezcla de oxidantes oxohalógenos, anión clorito, y dióxido de cloro a la concentración de 20 mg/L, para disminuir los niveles salivales de *Streptococcus mutans*, *lactobacilos* y *Candida albicans* en un grupo de 33 pacientes. Los pacientes se sometieron a episodios de enjuague bucal con el producto preparado (20 mL durante un período de 60 segundos, tres veces al día) durante un total de 14 días, y posteriormente repitieron este ejercicio con agua mineral en lugar de la formulación de enjuague bucal. Un grupo de 10 estudiantes voluntarios de odontología, que realizan los mismos regímenes de enjuague bucal con agua mineral en lugar del producto de cuidado de la salud oral, sirvió como grupo de control. Los niveles de microorganismos salivales se determinaron tanto antes como después del período de prueba anterior. Los resultados demostraron que los oxidantes oxohalógenos biocidas presentes en la formulación de enjuague oral probado dieron lugar a una reducción sustancial en los niveles de *S. mutans* y *lactobacilos* salivales ($p < 0,001$ y $0,005$, respectivamente), aunque la disminución observada en *C. albicans* no logró ser significativa. Como era de esperar, el agua mineral empleada como sistema de enjuague bucal por el mismo grupo de pacientes, o el grupo de control estudiantil, no ejerció ninguna influencia sobre los niveles salivales de cada uno de estos microorganismos. Se discuten las ramificaciones terapéuticas, microbiológicas y bioquímicas de los resultados obtenidos.

Mohammad A. et al. (2004)²⁸ evaluaron la eficacia clínica y microbiológica del dióxido de cloro (ClO_2) como antiséptico tópico para el tratamiento de la candidiasis crónica atrófica en treinta pacientes geriátricos. Se les indicó a los pacientes que se enjuagaran la boca con un enjuague bucal con dióxido de cloro al 0,8 % llamado

DioxiDent (que contenía 100 mg/L de la molécula intacta de dióxido de cloro) dos veces al día durante un minuto y remojaran su dentadura postiza durante la noche en el ClO_2 durante 10 días. Los pacientes fueron evaluados clínicamente y microbiológicamente al inicio y después de 10 días, y se registraron los efectos secundarios significativos. La apariencia clínica de los tejidos blandos orales se puntuó en una escala de 0-3 (0 indicaba: sin signos clínicos, 1 indicaba: con compromiso de < 25 % de la mucosa palatina, 2 indicaba: con compromiso de 25-50 % de la mucosa palatina y 3 indicaba: eritema marcado que afecta a > 50 % de la mucosa palatina). Se realizaron pruebas microbiológicas para determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Candida albicans*. Dio como resultado que el dióxido de cloro (ClO_2) mejoró significativamente el aspecto clínico y el recuento microbiano ($p < 0,001$) después del tratamiento, sin efectos secundarios significativos. Los resultados mostraron una marcada mejoría en la apariencia clínica de los tejidos después de 10 días, con una resolución total en la mayoría de los casos. La UFC/ml total varió de 15 000-53 000 al inicio, y se redujo a $< 6 = 500$ después de 10 días de tratamiento ($p < 0,001$). La puntuación clínica media fue de 2,50 al inicio del estudio y se redujo a 0,17 después de 10 días de tratamiento ($p < 0,001$). Dentro de las limitaciones de este estudio piloto, se demostró la efectividad del dióxido de cloro estabilizado tópico (0,8 %) en el manejo de la candidiasis crónica atrófica. El ClO_2 proporcionó una opción segura y fue clínicamente eficaz en el manejo de la candidiasis crónica atrófica.

Wirthlin M. et al. (2005)²⁹ evaluaron que la concentración mínima inhibitoria (CMI) no proporciona información sobre la eficacia de los agentes antimicrobianos contra las infecciones que involucran biopelículas, que son muchas veces más resistentes que las formas planctónicas de las bacterias. Este informe trata sobre el diseño y la prueba inicial de un dispositivo para cultivar biopelículas estándar y analizar agentes antimicrobianos. Se construyó un fermentador de biopelícula modelo de laboratorio duradero y autoclavable (LMBF) que contiene discos de hidroxiapatita 300 micras por

debajo de una superficie en la que un medio de saliva artificial gotea a una velocidad comparable al flujo salival humano. Inoculado con *Streptococcus sanguinis*, el dispositivo formó biopelículas que fueron barridos con un limpiador de teflón en condiciones aeróbicas. Se retiraron asépticamente los discos recubiertos con la biopelícula de cinco días y se colocaron en 3 ml de solución salina estéril, en gluconato de clorhexidina al 0,12 % y en el enjuague bucal con dióxido de cloro tamponado con fosfato al 0,1 % respectivamente durante 1 minuto. Los discos y el agente de prueba se diluyeron inmediatamente con solución salina a 10 ml, se agitaron en vórtice durante 30 segundos, se diluyeron en serie, se sembraron en agar sangre y se incubaron anaeróbicamente durante 2 días. Se realizaron recuentos bacterianos y se determinó la CMI de cada enjuague bucal. En pruebas con agua estéril y medio estéril, el dispositivo mantuvo un sistema cerrado. Después de la inoculación con *S. sanguinis*, se alcanzó un estado estable el día 5. La concentración de clorhexidina alcanzó una reducción de aproximadamente $2 \log_{10}$ ($P = 0,002$), pero nunca logró la muerte completa. El dióxido de cloro no tuvo un efecto significativo. La CMI contra *S. sanguinis* planctónica fue 112,8 mg/L para clorhexidina y 9,0 mg/L para dióxido de cloro. El LMBF genera y mantiene una biopelícula de modelo oral de una sola especie en un estado estable y permite pruebas *in vitro* de enjuagues bucales desinfectantes en el uso clínico simulado. Debería ser útil para pruebas más avanzadas de biopelículas de múltiples especies.

Peruzzo D. et al. (2007)³⁰ evaluaron el efecto inhibitor de un enjuague bucal comercialmente disponible (0,1 % de dióxido de cloro estabilizado) sobre la formación de compuestos de azufre volátiles (VSC) en comparación con su placebo. Se realizó un estudio randomizado, cruzado, doble ciego con 14 estudiantes de odontología con periodonto sano, que se abstuvieron de cualquier limpieza mecánica de la placa dental y del control de la placa de la lengua durante dos períodos experimentales de 4 días. Los sujetos fueron instruidos para enjuagarse 3 veces al día con el producto asignado

durante cada período. Se estableció un intervalo de lavado de 7 días. Los niveles de VSC se midieron mediante un monitor de sulfuro al inicio (línea de base) y al final de cada período experimental. Los análisis estadísticos se realizaron mediante pruebas no paramétricas de Wilcoxon y Mann-Whitney. Al inicio, el análisis intragrupal reveló que los niveles de VSC no difirieron entre los grupos ($p > 0,05$). En el día 5, el uso del enjuague bucal con dióxido de cloro no cambió los valores basales de VSC en el grupo control ($p > 0,05$), mientras que se observó un aumento de 2 veces con el uso del enjuague bucal placebo ($p < 0,05$). El análisis intergrupar mostró una diferencia significativa entre los niveles de VSC de los grupos de prueba y de control ($40,2 \pm 30,72$ y $82,3 \pm 75,63$ ppb, $p < 0,001$) en el día 5. Dentro de los límites de este estudio, los hallazgos sugieren que un enjuague bucal que contiene dióxido de cloro puede mantener VSC en niveles más bajos en el aliento de la mañana.

Marder M. y Marder R. (2008)³¹ evaluaron un posible tratamiento utilizando un enjuague bucal que contiene dióxido de cloro 0,1 % en pacientes con osteonecrosis asociada a bisfosfonatos (BON). Todos los pacientes recibieron instrucciones de usar continuamente el enjuague bucal con dióxido de cloro estabilizado al 0,1 % tamponado con fosfato, y hasta la fecha ninguno ha tenido una recurrencia o aparición de nuevos BON. Además, cabe señalar que la práctica dental privada de los autores atiende a unas 1 800 visitas de pacientes al año. Es principalmente una práctica dental de restauración general con procedimientos quirúrgicos menores (es decir, biopsias, extracciones ocasionales no complicadas). La significación es el número total de pacientes con BON (4 a 5), que es una enfermedad relativamente rara, pero quizás una cuya incidencia está aumentando. Se presentaron los casos de BON en un paciente a quien se le administró bisfosfonatos intravenosos para el tratamiento del cáncer y 3 casos de BON en pacientes que usaban o habían usado previamente la forma oral de bifosfonatos. Estos últimos fueron tratados exitosamente con el uso de un enjuague bucal con dióxido de cloro estabilizado al 0,1 % tamponado con fosfato.

Se deben realizar investigaciones clínicas adicionales para verificar estas observaciones del tratamiento.

Shinada K. et al. (2008)³² evaluaron los efectos inhibitorios de un enjuague bucal que contenía ClO_2 en el mal olor oral matutino utilizando medidas organolépticas (OM) y cromatografía de gases (GC). Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, cruzado y controlado con placebo entre 15 voluntarios masculinos sanos, divididos en 2 grupos. En la primera fase de la prueba, los sujetos del grupo 1 ($N = 8$) fueron instruidos para enjuagarse con el enjuague bucal experimental que contenía ClO_2 y los del grupo 2 ($N = 7$) para enjuagarse con el enjuague bucal placebo sin ClO_2 . En la segunda fase de prueba, después de un período de lavado de una semana, cada grupo usó el enjuague bucal opuesto. El mal olor oral se evaluó antes del enjuague, justo después del enjuague y cada 30 minutos hasta llegar a las 4 horas con OM, y las concentraciones de sulfuro de hidrógeno (H_2S), metilmercaptano (CH_3SH) y sulfuro de dimetilo ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$) los principales VSC del mal olor oral humano, se evaluaron con GC. La condición oral inicial en los sujetos de los 2 grupos no difirió significativamente. El enjuague bucal que contenía ClO_2 mejoró el mal aliento de la mañana según OM y redujo las concentraciones de H_2S , CH_3SH y $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ de acuerdo con el GC hasta 4 horas después del enjuague. Los puntajes OM con ClO_2 fueron significativamente más bajos que los que no tienen ClO_2 en todos los tiempos de examen. También se observaron reducciones significativas en las concentraciones de los tres tipos de VSC medidos por GC en todos los tiempos del examen. Las concentraciones de los tres gases con ClO_2 fueron significativamente más bajas que aquellas sin ClO_2 en la mayoría de los tiempos del examen. En este estudio exploratorio, el enjuague bucal con ClO_2 fue eficaz en la reducción del mal olor de la mañana durante 4 horas cuando se utilizó por sujetos sanos.

Shinada K. et al. (2010)³³ evaluaron los efectos inhibitorios de un enjuague bucal que contenía ClO_2 usado durante 7 días en el mal olor oral matutino y en las bacterias

salivales periodontales y malolientes. Se realizó un ensayo aleatorizado, doble ciego, cruzado y controlado con placebo entre 15 voluntarios masculinos sanos, divididos en 2 grupos. Los sujetos fueron instruidos para que se enjuaguen con el enjuague bucal experimental que contenía ClO_2 o el enjuague bucal placebo, sin ClO_2 , dos veces al día durante 7 días. Después de un período de lavado de una semana, cada grupo utilizó entonces el enjuague bucal opuesto durante 7 días. Al inicio y después de 7 días, se evaluó el mal olor oral con la medición organoléptica (OM) y se analizaron las concentraciones de sulfuro de hidrógeno (H_2S), metilmercaptano (CH_3SH) y sulfuro de dimetilo ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$), los compuestos de azufre volátiles (VSC) principales del mal olor oral humano, se evaluaron mediante cromatografía de gases (GC). Las variables de resultado clínico incluyeron los índices de placa e índice gingival, y el índice del biopelícula de la lengua. Las muestras de saliva fueron investigadas microbiológicamente. Los análisis cuantitativos y cualitativos se realizaron mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa. La condición oral inicial en sujetos sanos en los 2 grupos no difirió significativamente. Se encontró que después de enjuagarse con el enjuague bucal que contenía ClO_2 durante 7 días, el mal aliento de la mañana disminuyó según lo medido por las mediciones organolépticas OM y se redujeron las concentraciones de H_2S , CH_3SH y $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ medidas por cromatografía de gases GC. Por otra parte el enjuague bucal de ClO_2 utilizado durante un período de 7 días parecía eficaz en la reducción de la placa, de la acumulación de recubrimiento de la lengua y de los recuentos de *Fusobacterium nucleatum* en la saliva. Se necesitan futuras investigaciones para examinar los efectos a largo plazo, así como los efectos sobre las enfermedades periodontales y la acumulación de placa en una muestra bien definida de pacientes con halitosis y muestras poblacionales más amplias.

Lundstrom J. et al. (2010)³⁴ compararon la eficiencia del dióxido de cloro 0,04 % como irrigante intracanal en biopelículas bacterianas en dientes bovinos. Treinta y nueve dientes fueron seleccionados e inoculados con diferentes cultivos bacterianos.

Los resultados demostraron que el dióxido de cloro fue igualmente eficaz en la actuación de biopelículas bacterianas de *Fusobacterium nucleatum* y *Peptostreptococcus micros* comparados con hipoclorito de sodio 3% y clorexidina al 2%. Sin embargo, en bacterias como *Streptococcus sanguis*, *Actinomyses viscosus*, el dióxido de cloro mostró no ser más efectivo que el hipoclorito de sodio o la clorexidina, pero demostró ser más efectivo en relación al agua destilada. Ya en biopelículas bacterianas procedentes de *Prevotella nigrescens*, el dióxido de cloro no demostró ser estadísticamente diferente que el agua destilada, presentando diferencia estadística al ser comparado con la clorhexidina y el hipoclorito de sodio.

Drake D. y Villhauer A. (2011)³⁵ evaluaron la actividad bactericida de un enjuague oral con dióxido de cloro estabilizado (enjuague bucal ClōSYS) en comparación con los productos actualmente disponibles en el mercado de su país. Las bacterias orales asociadas con gingivitis y periodontitis fueron expuestas a enjuagues durante un minuto y cinco minutos. El número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC / mL) se midieron antes y después de la exposición para determinar la actividad bactericida. Como se esperaba, Listerine y Crest Pro-Health demostraron la muerte completa de todas las bacterias expuestas en un minuto. Breath Rx exhibió los niveles más débiles de efectos bactericidas en general. Los enjuagues ClōSYS y clorhexidina demostraron ser idénticos en la eliminación contra los patógenos periodontales a los cinco minutos; en algunos casos, el enjuague oral de ClōSYS consiguió una muerte más alta en la marca de un minuto sobre el enjuague con clorhexidina. Los resultados demostraron que el enjuague bucal ClōSYS tiene potencial para proporcionar un beneficio terapéutico, por lo que es una opción atractiva para inducir el cumplimiento en pacientes preocupados por el sabor y la decoloración de los dientes durante la terapia de salud oral.

Herczegh A. et al. (2013)³⁶ evaluaron la efectividad del dióxido de cloro *in vitro*, para eliminar la biopelícula bacteriana proveniente del *E. faecalis*. Se inocularon

dientes humanos con la bacteria y después del período de incubación, se utilizaron los irrigantes hipoclorito de sodio 5,25 %, clorhexidina 2 %, solución salina como control y dióxido de cloro 0,12 %. Para analizar una posible reinfección, los autores evaluaron la presencia bacteriana poco después de la irrigación con los productos, en el 2º y 5º día. Después de la irrigación, todos los irrigantes actuaron en la biopelícula bacteriana, excepto en el grupo control. En el segundo día, no hubo diferencia entre clorhexidina y dióxido de cloro, existiendo apenas diferencia entre los demás grupos. Después del quinto día, sólo las muestras que utilizaron el dióxido de cloro como irrigante mantuvieron los niveles de reinfección bajos. Los autores concluyeron que la utilización del dióxido de cloro fue capaz de eliminar la infección causada por *E. faecalis* y fue efectiva contra una posible reinfección del agente bacteriano.

Soares L. et al. (2013)³⁷ evaluaron el efecto clínico de un enjuague bucal que contiene 0,30 % de dióxido de cloro (ClO_2) estabilizado en la reducción de compuestos de azufre volátiles (VSC). La halitosis fue inducida por L-cisteína en 11 voluntarios, y se compararon 4 soluciones: una solución de prueba que contiene 0,30 % de ClO_2 estabilizado, 0,07 % de cloruro de cetilpiridinio (CPC) y 0,05 % de fluoruro de sodio; un placebo; una solución que contiene 0,05 % de CPC; y una solución de control de gluconato de clorhexidina al 0,2 % (CHX). Los niveles de VSC se evaluaron usando un Halimeter, y se realizaron 6 mediciones desde el inicio hasta 3 horas después. La tasa de reducción de VSC del enjuague bucal de prueba fue superior al placebo y la solución de CPC. No hubo diferencia entre la solución de prueba y la solución de CHX en las tasas de reducción de VSC inmediatamente después, o en 2 y 3 horas después de la administración.

Herczegh A. et al. (2013)³⁸ evaluaron la eficiencia del dióxido de cloro a una concentración de 0,03 %, y su actuación en microorganismos patógenos naturales de la flora oral y en biopelículas bacterianas *in vitro*. El dióxido de cloro no presentó reacción con la mayoría de los componentes orgánicos, sin embargo posee una avidez

por 4 aminoácidos (Cisteína, Metionina, Tirosina y Triptófano) cruciales en microorganismos como bacterias y virus. Debido a la baja penetración en tejidos vivos y la protección de antioxidantes en la circulación sanguínea de organismos pluricelulares, el dióxido de cloro demuestra una mayor seguridad en los seres humanos. En la mayoría de los casos, el dióxido de cloro se ha difundido en la biopelícula debido a su solubilidad en fase acuosa y lipídica, los autores probaron su eficiencia frente a *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Veillela alcalescens*, *Eikenella corrodens* comparado con otros desinfectantes bucales como Listerine, hipoclorito de sodio 5,25 % y clorhexidina 0,2 %. El dióxido de cloro fue eficiente en todas las bacterias evaluadas. Sobre la evaluación de la dilución de la biopelícula bacteriana, se recogieron placas dentales de los primeros molares de 20 estudiantes universitarios y cultivados en una infusión de cerebro-corazón. La biopelícula fue evaluada con un 0,2 % de clorhexidina, Listerine y 0,03 % de dióxido de cloro. Se constató que la actuación del dióxido de cloro fue eficaz, no existiendo diferencia estadística en la comparación con la clorhexidina y el Listerine.

Neetha J. et al. (2013)³⁹ compararon el efecto inhibitorio de un enjuague bucal que contenía 0,1 % de ClO_2 estabilizado con enjuague bucal de clorhexidina al 0,2 % en mal olor oral matutino. Se realizó un ensayo cruzado, doble ciego, aleatorizado entre 18 voluntarios masculinos sanos, divididos en 2 grupos. Los sujetos del grupo 1 fueron instruidos para enjuagar con el enjuague bucal experimental que contenía 0,1 % de ClO_2 estabilizado y los sujetos del grupo 2 se les pidió que se enjuagaran con clorhexidina al 0,2 %, dos veces al día durante 7 días. Después de un período de lavado de una semana, cada grupo utilizó entonces el enjuague bucal opuesto durante 7 días. Al inicio y después de 7 días, se evaluó el mal olor oral con un halímetro que mide los compuestos volátiles de azufre (VSC) en partes por billón. Las variables clínicas que se midieron incluyeron la placa y los índices gingivales. Se observó una

disminución en la cantidad de VSC después de un uso de 7 días de ClO_2 estabilizado, así como con el uso de enjuagues bucales de clorhexidina, que fueron estadísticamente significativos, con mayor importancia después del uso de ClO_2 estabilizado. También, se observó una reducción significativa en las puntuaciones de placa después del uso del enjuague bucal de ensayo. La disminución en la cantidad de VSC indica una reducción en el mal olor oral. Se necesitan futuras investigaciones para examinar los efectos a largo plazo, así como los efectos de la ClO_2 sobre la acumulación de placa y las enfermedades periodontales en una muestra bien definida de pacientes con mal olor oral y en muestras más amplias de la población.

Kuroyama I. et al. (2013)⁴⁰ evaluaron los efectos bactericidas y el tiempo bactericida de un gel compuesto de clorito de sodio acidificado (ASC-Gel) en bacterias aisladas de los surcos periimplantarios de 10 pacientes que recibieron implantes 3-27 años antes, y la profundidad de cada surco periimplantario fue de 5 mm o menos. *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) se usó como la bacteria de control. Se crearon cinco preparaciones de ASC-Gel añadiendo 3,3 %, 5,0 %, 7,0 %, 9,0 % y 11,0 % de ácido cítrico (CA) (condiciones a, b, c, d y e, respectivamente) en un gel hidratante oral que contiene clorito de sodio. Las concentraciones de dióxido de cloro (ClO_2) generados en ASC-Gel en las condiciones (a) a (e) fueron 12,1; 14,1; 17,2; 21,2 y 39,3 mg/L, respectivamente. Se examinó los efectos bactericidas de las 5 preparaciones ASC-Gel en volúmenes de 0,5; 1,0 y 2,0 mL, y se midió el tiempo bactericida cuando 2,0 mL de ASC-Gel se usaron bajo la condición (e). Los efectos bactericidas de ASC-Gel se volvieron significativamente mayores con el aumento de las concentraciones de CA y ClO_2 y con un uso incrementado (0,5-2,0 mL) del gel. Todas las bacterias se destruyeron usando 2,0 mL de ASC-Gel en la condición (e). ASC-Gel también necesitó entre 45 y 90 minutos para matar a todos los microbios en condiciones (e). Dentro de los límites de la presente investigación, estos resultados sugieren que ASC-Gel es útil como desinfectante químico contra bacterias en el surco

periimplantario. También se requieren más estudios para proteger los dientes, la superficie de los implantes recubiertos de hidroxiapatita y los tejidos blandos circundantes de los efectos de la disolución química, como la erosión ácida, debido al bajo pH de ASC-Gel.

Herczegh A. et al. (2014)⁴¹ analizaron en un modelo de polvo de dentina, *in vitro*, los siguientes irrigantes contra *E. faecalis* planctónico: clorhexidina al 2 % (CHX), hipoclorito de sodio al 2,5 % (NaOCl), ClO₂ al 0,12 % (Solumium) y un medicamento del conducto radicular local: Ca (OH)₂. Se investigó la supervivencia de bacterias expuestas a agentes sin y con polvo de dentina humana (barro dentinario) o pre incubadas con polvo de dentina. El efecto del polvo de dentina sobre la concentración de ClO₂ se investigó mediante valoraciones. Sin polvo de dentina, el ClO₂ eliminó todos los *E. faecalis* y obtuvo el mejor resultado después de 1 minuto; sin embargo, después de un tiempo de contacto más prolongado con la dentina, la diferencia entre los desinfectantes desapareció. La presencia de polvo de dentina disminuyó la concentración de ClO₂ y atenuó la eficacia antibacteriana de ClO₂ y Ca (OH)₂, pero no disminuyó de CHX y NaOCl. La preincubación con polvo de dentina causó una pérdida significativa de actividad antibacteriana de todos los agentes investigados, ClO₂ y Ca (OH)₂ que tiene la reducción más alta. Como la presencia de polvo de dentina tuvo un efecto negativo sobre la eficacia de los desinfectantes, se recomienda la eliminación del barro dentinario del sistema de conductos radiculares durante los tratamientos de endodoncia. El ClO₂ puede ser efectivo para un enjuague final.

Kim J. et al. (2014)⁴² evaluaron la capacidad de las soluciones acuosas anti-compuestos de azufre volátiles (VSC) para eliminar VSC gaseosos por contacto directo en un espacio sellado para describir el posible modo de acción de los agentes anti-VSC. Se usó veinte mililitros de cada solución experimental 0,16 % de clorito de sodio; 0,25 % de cloruro de cinc; 0,1 % de clorhexidina y agua destilada, fueron inyectados en una bolsa de teflón que contenía VSC mixtos, sulfuro de hidrógeno,

metil mercaptano y sulfuro de dimetilo y se mezclaron vigorosamente por 30 segundos. La concentración de VSC se midió por cromatografía de gases antes, inmediatamente después, 30 minutos y 60 minutos después de la mezcla. La solución de clorito de sodio redujo la concentración de VSC notablemente. Después de la mezcla, casi todos los VSC se eliminaron inmediatamente y no se detectaron VSC a los 30 y 60 minutos después de la mezcla. Sin embargo, en las otras soluciones, la concentración de VSC disminuyó en ~ 30% inmediatamente después de la mezcla y no hubo una disminución adicional. Los resultados sugieren que la solución de clorito de sodio tiene el efecto de eliminar VSCs gaseosos directamente. Esto debe ser porque puede liberar gas de dióxido de cloro que puede reaccionar directamente con VSC gaseosos. En el caso de otras soluciones que han demostrado ser efectivas para reducir la halitosis clínicamente, se puede proponer que su efecto anti-VSC es menos probable debido a la eliminación química directa de los VSC gaseosos en la boca.

Aung E. et al. (2015)⁴³ evaluaron los efectos de diferentes procedimientos de higiene bucal en la reducción de compuestos de azufre (VSC) en treinta voluntarios varones con mal olor oral que cumplieron los criterios del estudio, se dividieron al azar en dos grupos. Ambos grupos realizaron el cepillado de los dientes, el lavado de la boca con dióxido de cloro, la limpieza de la lengua y la combinación de aquellos en secuencia diferente durante cinco semanas. El total de VSC de los sujetos fueron medidos con un Breathtron®, y el estado de salud oral también fue examinado. No hubo diferencias significativas en el estado de salud bucal entre los dos grupos al inicio (línea de base). No se detectó una disminución significativa en el mal olor oral después de una semana de cepillado. Las reducciones significativas en VSC se demostraron agregando el enjuague bucal o la limpieza de la lengua al cepillado de dientes de la segunda semana a la cuarta semana ($P < 0,01$). La mayor reducción en VSC se encontró a la quinta semana después de la práctica de los tres regímenes de higiene oral. El cepillado de dientes por sí solo no reduce significativamente el mal olor

oral. El lavado de la boca con el enjuague bucal y la limpieza de la lengua reducen significativamente el mal olor oral, pero combinar el cepillado de dientes, el lavado de la boca con el enjuague bucal y los regímenes de limpieza de la lengua es más efectivo para la reducción del mal olor oral. Los resultados de este estudio podrían contribuir a la formulación de estrategias preventivas adecuadas contra el mal olor oral, no sólo para el público en general, sino también para los profesionales dentales que actúan como proveedores de servicios relacionados a evitar los malos olores orales.

Yadav S. et al. (2015)⁴⁴ evaluaron la eficacia del enjuague bucal que contiene dióxido de cloro estabilizado y el enjuague bucal con clorhexidina (CHX) en la inhibición de la acumulación de saburra en la lengua y la formación de placa dental utilizando un modelo de rebrote de placa de cuatro días. Se realizó un ensayo clínico microbiológico de un solo centro, aleatorizado, triple ciego, involucrando a 25 voluntarios estudiantes de odontología sanos (11 varones, 14 mujeres). Dos enjuagues bucales disponibles comercialmente: Enjuague bucal A - enjuague bucal basado en una solución acuosa de ClO₂ Freshchlor® y Enjuague bucal B - enjuague bucal basado en una solución acuosa de CHX al 0,2 % Hexidine®, fueron seleccionados como productos de prueba. Se pidió a los sujetos que se enjuagaran e hicieran gárgaras durante 1 minuto con el enjuague bucal asignado (bajo supervisión) después del destartraje supragingival, el pulido y la eliminación de saburra de la lengua. Después de cuatro horas, se tomaron frotis de la mucosa bucal y la superficie del diente. En el quinto día desde iniciado un modelo de rebrote de placa de cuatro días sin cepillado, las muestras se tomaron nuevamente de la mucosa bucal y la superficie del diente seguida por el registro de las puntuaciones de placa por el índice de placa modificado de Rastogi, extensión de la capa de lengua por el índice de saburra de lengua de Winkel y la medición del peso húmedo de la saburra de lengua en gramos. Las muestras recogidas se sometieron a análisis microbiano y los

resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias (UFC) por muestra. Las puntuaciones de la placa y las puntuaciones de la saburra lingual de Winkel, el peso de la saburra lingual húmeda registrado al quinto día después del uso de los dos enjuagues bucales no mostraron una diferencia estadísticamente significativa. La UFC por muestra de diente y mucosa después de cuatro horas reveló un bajo recuento de bacterias con respecto al enjuague bucal B sin embargo la UFC obtenidas en el quinto día no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre los dos enjuagues bucales. La eficacia clínica antiplaca de los enjuagues bucales de CHX y ClO₂ estabilizado es comparable y también lo es la eficacia en la reducción de la carga bacteriana oral.

Yeturu S. et al. (2016)⁴⁵ evaluaron el efecto de los enjuagues bucales de Aloe vera, dióxido de cloro y clorhexidina sobre la placa y la gingivitis en el tratamiento ortodóntico. Se realizó un ensayo clínico aleatorizado de un solo centro, simple ciego, de un grupo paralelo y controlado, entre 90 sujetos sometidos a tratamiento ortodóntico fijo. Los sujetos fueron divididos aleatoriamente en uno de los tres grupos de estudio (Aloe vera, clorhexidina y dióxido de cloro). La placa y la gingivitis se evaluaron usando el Índice de Placa de Silness y Loe modificado y el Índice Gingival al inicio y durante los siguientes 15 días después. Se utilizaron el test t pareado y ANOVA con la prueba de Dunnett post hoc. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. Un total de 85 participantes completaron el estudio; entre ellos, 40 eran hombres y 45 mujeres. Hubo una reducción significativa en el promedio de las puntuaciones gingival y de placa en todos los 3 grupos durante los subsiguientes 15 días en comparación con los niveles basales. Se encontró una reducción significativamente alta (puntuaciones gingival y de placa) en la clorhexidina en comparación con el grupo de Aloe vera. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia significativa entre la clorhexidina y el dióxido de cloro con respecto a la reducción promedio en las puntuaciones gingivales y de placa. El dióxido de cloro

puede ser una alternativa adecuada y económica para la clorhexidina. Se recomiendan otros estudios a largo plazo para evaluar su eficacia.

3.2. Bases teóricas

3.2.1. Ecología de la cavidad bucal

La ecología comprende el estudio de las relaciones entre los microorganismos y el ambiente, entonces la cavidad bucal se considera un ambiente que posee propiedades que influyen en la composición y la actividad de los microorganismos que en él se encuentran.⁴⁶

La cavidad bucal experimenta distintas interacciones ecológicas que determinan las características cualitativas y cuantitativas de la totalidad de su microbiota, en los distintos nichos ecológicos y en las distintas situaciones de salud (eubiosis) y enfermedad (disbiosis).⁴⁶

Los microorganismos que componen la microbiota bucal coexisten en ecosistemas que están regulados por una serie de factores conocidos como determinantes ecológicos internos y externos.⁴⁶

En la actualidad se han descrito moléculas “señal”, autoinductoras, que los microorganismos grampositivos y gramnegativos liberan al medio bucal y les permiten la regulación del proceso de formación de las biopelículas bacterianas y su forma natural de crecimiento.⁴⁶

La microbiota de la cavidad bucal es compleja, en el 2001 se reconocían 500 especies; actualmente se calcula que serían unas 700 especies las que la habitan, esto gracias a los avances de las técnicas de la biología molecular que han permitido establecer diferencias e identificar diferentes microorganismos y sus genes.⁴⁶

3.2.1.1. Origen y desarrollo de la microbiota bucal

La cavidad oral antes del nacimiento se encuentra libre de gérmenes. En el momento del parto dicha cavidad queda expuesta a la microbiota del tracto vaginal materno, donde aparecen microorganismos tales como especies de corinebacterias, lactobacilos, coliformes y cocos anaerobios facultativos, anaerobios estrictos y algunas veces protozoos.⁴⁶

Los microorganismos que colonizan al recién nacido a partir de las ocho horas del alumbramiento constituyen la denominada comunidad pionera ya que ellos son los primeros en instalarse y los más poderosos son los estreptococos (*Streptococcus grupo salivarius*) en la lengua, las mucosas y libres en la saliva. Pueden identificarse otros géneros: estafilococos, lactobacilos, neumococos, coliformes, sarcinas, *Neisseria*, *Haemophilus* y *Candida albicans*. El único que suele aparecer de manera constante en número elevado es el *S. salivarius*.⁴⁶

La cavidad bucal es selectiva porque sólo determinados microorganismos ingresan en ella para establecerse en sus nichos ecológicos. El medio bucal experimenta sus mayores cambios alrededor de los seis meses de vida, debido a la erupción de las piezas dentarias primarias. Al completarse la microbiota de la dentición primaria y posteriormente de la dentición permanente se conforma la comunidad clímax.⁴⁶

Los microorganismos que componen la comunidad clímax varían en calidad y cantidad a lo largo de la vida de los individuos, ya que se ve afectada por factores que promueven o limitan su desarrollo, tales como los nutrientes, el pH, la temperatura, la humedad entre otros.⁴⁶

3.2.1.2. Las biopelículas y su potencial patogénico

En 1987 Costerton definió la biopelícula como “una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un sustrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular

producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes”.⁴⁶

El primer paso para que la biopelícula bacteriana se establezca, es la adherencia microbiana que es mediada por distintos mecanismos inespecíficos y específicos a través de la interrelación entre adhesinas y receptores. A la adhesión de los primeros colonizadores le siguen fenómenos de coagregación, lo que constituye el denominado “mosaico de microorganismos”, el cual varía de acuerdo con las propiedades biológicas y físicas del sitio.⁴⁶

Las características generales de las biopelículas son: ⁴⁶

- Están conformadas por comunidades microbianas, donde participan distintos géneros y especies bacterianas.
- Los microorganismos forman microcolonias, cuya arquitectura semeja torres o setas.
- Los microorganismos que la constituyen están contenidos en una matriz formada principalmente por polisacáridos extracelulares.
- Los canales que atraviesan la estructura de la biopelícula favorecen el flujo de nutrientes, productos de excreción, enzimas, metabolitos y oxígeno.
- Los microorganismos se comunican entre sí por señales químicas, a partir de las cuales se activan mecanismos para producir nuevas proteínas y enzimas. Se expresan genes que dan lugar a cambios fenotípicos en la comunidad.
- Los microorganismos incluidos en ellas son menos sensibles a la acción de antisépticos, antibióticos y a fagocitosis.

La biopelícula de la placa dental ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de la caries dental y las enfermedades periodontales. De acuerdo con la hipótesis específica una biopelícula con predominio de microorganismos grampositivos, acidogénicos y acidúricos está relacionada con la etiología de la caries

dental mientras que otra donde haya mayor proporción de microorganismos proteolíticos y gramnegativos, es considerada una placa periodontopatogénica. En la hipótesis ecológica propuesta por Marsh en 1997, postula que el balance entre las condiciones que brindan el hospedador con los microorganismos de la cavidad bucal y aquellos que constituyen la biopelícula condiciona la aparición de la enfermedad.⁴⁶

3.2.1.3. Géneros y especies microbianas presentes en la cavidad bucal

La mayor parte de los microorganismos de la cavidad bucal son cocos y bacilos grampositivos y gramnegativos, aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, y ello depende del nicho ecológico que los albergue.⁴⁶

Entre los microorganismos que constituyen la microbiota autóctona de la cavidad bucal, se destacan los microorganismos pertenecientes a los *phylum: Firmicutes* y *Actinobacteria* entre los grampositivos y los que se encuentran dentro de los *phylum Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Synergistes* *phylum Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Synergistes* y *Proteobacterias* que agrupan a los microorganismos considerados actualmente como gramnegativos. Los cocos grampositivos, fundamentalmente *Streptococcus viridans* del *phylum Firmicutes*, son los más aislados en los ecosistemas bucales en estado de salud. Los *Streptococcus* del grupo *mutans* (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*) son los microorganismos más asociados con caries dental. También se identifican otras formas cocoideas, anaerobias estrictas, como *Veillonella* y elementos filamentosos polimorfos, como *Lactobacillus*, *Actinomyces* y *Bifidobacterium*. La mayor parte de los microorganismos asociados con enfermedad periodontal se encuentra dentro de los *phylum* tradicionalmente como gramnegativos: *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Synergistes*, *Proteobacterias* y *Chlamidiae*. También se encuentran espiroquetas comensales y hongos como *Candida albicans*, especies de *Mycoplasma* y virus como Epstein-Barr y *Cytomegalovirus*.⁴⁶

3.2.2. El dorso de la lengua

El dorso de la lengua con sus características propias de humedad y la presencia de criptas y papilas, ofrece amplias posibilidades para la colonización bacteriana; aproximadamente un 45 % son cocos grampositivos anaerobios facultativos, destacando sobre los demás *S. salivarius*, seguido de *S. mitis*, estreptococos del grupo milleri y es frecuente la detección de *S. mucilaginosus*; le siguen en proporción los cocos gramnegativos anaerobios estrictos lo cuales son aproximadamente un 16 % de diversas especies de *Veillonella*, también están presentes bacilos grampositivos anaerobios facultativos representando un 12 %, fundamentalmente *Actinomyces* spp., en menor proporción pueden detectarse diversas especies pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Fusobacterium* y *Haemophilus*.⁴⁷

3.2.3. Agentes para el control químico de la biopelícula bucal

Durante varias décadas ha existido un interés bastante intenso por el uso de agentes químicos para el control de la placa supragingival y con ello, de la gingivitis. La cantidad y la variación de los agentes químicos evaluados es bastante grande, pero la mayor parte tiene acciones antisépticas o antimicrobianas y su éxito ha sido en extremo variable. Es importante destacar que las fórmulas basadas en agentes antimicrobianos suministran una acción preventiva mucho mayor que la terapéutica. Los agentes más eficaces inhiben el desarrollo de placa y de gingivitis, pero son limitados o lentos para afectarlas si están establecidas.⁴⁸

3.2.3.1. Clorhexidina

La clorhexidina es un antiséptico bisbiguanídico, con una molécula simétrica consistente en cuatro anillos de clorofenilo y dos grupos biguanida, conectados por un puente central de hexametileno. El compuesto es una base fuerte y dicatiónica a niveles de pH superiores a 3,5 con dos cargas positivas a cada lado de un puente de hexametileno (Albert y Sargeant, 1962).⁴⁸

Debido a su naturaleza dicatiónica, la clorhexidina se torna extremadamente interactiva con los aniones, lo que es pertinente para la eficacia, la seguridad, los efectos locales adversos y las dificultades en la formulación de productos.⁴⁸

La clorhexidina tiene tres formas de presentación, sales de digluconato, acetato y clorhidrato. La mayor parte de los estudios y de las formulaciones y productos para uso bucal han usado la sal digluconato, que se produce como concentrado V/V al 20 %. Las sales digluconato y acetato son hidrosolubles, pero el clorhidrato es muy poco soluble en agua.⁴⁸

La clorhexidina fue desarrollada en la década de 1940 por Imperial Chemical Industries de Inglaterra y desde 1954 se comercializa como antiséptico para heridas cutáneas. Luego, el antiséptico se utilizó más ampliamente en medicina y en cirugía, incluido su empleo en obstetricia, ginecología, urología y preparación prequirúrgica de la piel tanto para el paciente como para el cirujano.⁴⁸

El uso odontológico fue primero para la desinfección prequirúrgica de la boca y en endodoncia. La inhibición de la placa por clorhexidina fue investigada inicialmente en 1969 (Schroeder, 1969), pero el estudio definitivo fue realizado por Loe y Schiott (1970). Esta investigación mostró que el enjuague durante 60 segundos dos veces por día con 10 mL de solución de gluconato de clorhexidina al 0,2 % (dosis de 20 mg) en ausencia de higiene dental normal inhibe el nuevo crecimiento de placa y el desarrollo de gingivitis. Después se hicieron numerosos estudios, de manera que la clorhexidina fue uno de los compuestos más investigados en odontología.⁴⁸

3.2.3.2. Cloritos de sodio acidificados

“Este agente no puede clasificarse cómodamente en ningún grupo; sin embargo, según el ácido elegido y las condiciones de la reacción entre el sodio y el clorito de sodio, puede ocurrir una variada y compleja gama de reacciones. En condiciones ideales para el control antimicrobiano se hace reaccionar el clorito de sodio con ácido prótico para producir ácido cloroso, que libera una gama de especies altamente

oxidantes, pero que contiene cantidades mínimas de dióxido de cloro. Estas especies altamente oxidantes poseen un amplio espectro de acción contra bacterias, hongos, levaduras y virus; estos productos están disponibles en los Estados Unidos para la industria alimenticia y de medicamentos veterinarios, como preventivo de la mastitis en las vacas y para la preservación de pollos congelados. En estudios de corta duración han sido probados colutorios experimentales para control del nuevo crecimiento de placa y del recuento bacteriano en la saliva (Yates y col., 1997). De manera sorpresiva, dado que el ácido y el clorito de sodio se mezclan inmediatamente antes del enjuague y que la duración de la reacción química estaría limitada a la duración de este, tres formulaciones demostraron ser tan buenas como la clorhexidina contra el nuevo crecimiento de la placa y con la misma sustantividad que este último agente. Aunque los colutorios de clorito de sodio acidificado no fueron estudiados durante períodos prolongados parece improbable que tengan efectos colaterales, en especial coloración de los dientes y alteración del gusto. Lamentablemente, como cabía esperar, el bajo pH de estas fórmulas puede causar erosión de los dientes y esto fue comprobado en estudios in situ (Pontefract y col., 2001). Esa erosión, que se halló comparable con la que produce el jugo de naranja in situ, impediría su uso continuo a largo plazo. Sin embargo, los colutorios de clorito de sodio acidificado podrían hallar aplicación en odontología preventiva, en forma similar a la descrita para la clorhexidina. Los efectos erosivos podrían no alcanzar niveles clínicamente significativos en un plazo de breve a mediano”.⁴⁸

3.2.4. Dióxido de cloro

3.2.4.1. Historia del dióxido de cloro

El dióxido de cloro (ClO_2), ahora comercialmente importante, no es un descubrimiento reciente. El gas fue producido por primera vez por Humphrey Davy en 1811 cuando se

hizo reaccionar ácido clorhídrico con clorato de potasio, denominándose por entonces como "euchlorine". Watt y Burgess, que inventaron el blanqueo de pulpa alcalina en 1834, mencionaron a "euchlorine" como agente blanqueador en su primera patente.⁴⁹

El dióxido de cloro llegó a ser conocido como lejía y luego como desinfectante. En la época de la Primera Guerra Mundial, cuando la Solución de Dakins (0,5 % de hipoclorito de sodio) obtuvo una amplia aceptación como desinfectante de heridas, el dióxido de cloro (ClO_2) no se adoptó de manera similar, ya que no había una manera fácil de producir el gas en pequeñas cantidades o transportarlo.⁴⁹

Desde el comienzo del siglo XX, cuando se utilizó por primera vez en un balneario en Ostend, Bélgica, el dióxido de cloro (ClO_2) ha sido conocido como un potente desinfectante del agua.⁴⁹

La producción de dióxido de cloro (ClO_2) a partir del mineral, clorato, es complicada, y el gas es explosivo, por lo que no pudo utilizarse fácilmente hasta la producción de polvo de clorito de sodio realizada por Olin Corporation en 1940. El dióxido de cloro ahora podría liberarse cuando sea necesario de la sal de clorito. En los suministros de agua municipales esto generalmente se hace agregando cloro a la solución de clorito y en el laboratorio agregando un ácido a la solución de clorito. Alliger demostró en 1978 que el dióxido de cloro (ClO_2) podría ser aplicado tópicamente por el usuario.⁴⁹

3.2.4.2. La estructura del dióxido de cloro

El dióxido de cloro (ClO_2) es completamente diferente del cloro elemental en su estructura y comportamiento químico. Es muy interesante el caso del dióxido de cloro (ClO_2), con su molécula con un número impar de electrones, que presenta resonancia entre las dos estructuras en las que el enlace de tres electrones resuena entre los dos enlaces sencillos Cl-O (cloro-oxígeno). El dióxido de cloro, es uno de las pocas moléculas excepcionales en el reino de la Química Mineral, que no cumplen la regla del octeto, según la cual para formar un enlace covalente, se comparten electrones periféricos entre átomos de una molécula, de los que cada átomo proporciona siempre

un número par, para sumar un total de ocho. La molécula del ClO_2 , es especial, con un número impar de electrones, obliga a compartir 7 electrones entre los dos O (oxígeno) y el Cl (cloro). Para ello, por una parte forma dos enlaces normales de dos electrones compartidos entre cada O y el Cl, a los que se añaden otros tres electrones danzantes que se intercambian rápidamente entre uno y otro oxígeno, en un fenómeno que se llama resonancia o mesomería, en el que además la distancia entre el O y el Cl es 1.53 angstroms menor que 1.65 angstroms correspondiente a un simple enlace covalente, lo que proporciona una mayor estabilidad a la molécula. Además a diferencia de los otros óxidos y oxácidos del cloro, el dióxido de cloro tiene unas propiedades electroquímicas únicas, puede ser dador o receptor de electrones, reductor u oxidante a pH neutro.^{50,51} (Figura 1)

Independientemente, la molécula de Oxígeno gas (O_2), tiene un número par de electrones, pero también presenta el fenómeno de resonancia. Se la suponía con un enlace covalente normal, compartiendo 2 electrones de cada átomo, lo que concordaba con los resultados espectroscópicos, pero no con las propiedades paramagnéticas de este elemento, lo que ha hecho que se considere que la estructura de la molécula de Oxígeno contiene un enlace covalente sencillo, más dos enlaces de tres electrones. Estos enlaces con número impar de electrones son los responsables de sus propiedades paramagnéticas, al alterar el momento angular del spin.^{50, 51}

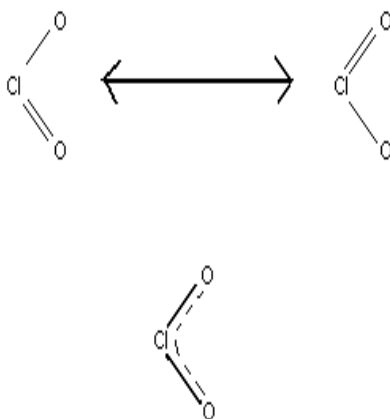


Figura 1: Estructura del dióxido de cloro^{50,51}

3.2.4.3. Características del dióxido de cloro

El dióxido de cloro es un gas de color verde amarillento, estable y sumamente soluble en agua hasta alcanzar concentraciones de 2 %. Una de las propiedades más interesantes del dióxido de cloro es su eficacia biocida en un amplio rango de pH que va de 3 a 10 (mejor de 4 a 9). Además de sus propiedades desinfectantes, el dióxido de cloro mejora la calidad del agua potable, es decir, neutraliza olores, remueve el color y oxida el hierro y el manganeso. El dióxido de cloro es sensible a la luz ultravioleta.^{52,53}

Estrictamente como desinfectante, el ClO_2 presenta las siguientes ventajas:

- Su potencial bactericida es relativamente independiente del pH entre 4 y 10.
- Es mejor que el cloro para el tratamiento de esporas.
- Requiere poco tiempo de contacto.
- Tiene buena solubilidad.
- No hay corrosión en altas concentraciones, lo que reduce los costos de mantenimiento.
- No reacciona con amoníaco o sales de amonio.
- Mejora la coagulación.
- Remueve hierro y manganeso mejor que el cloro.

Las propiedades residuales del dióxido de cloro son limitadas, por tal motivo, suele emplearse el cloro como desinfectante secundario para asegurar protección adicional en el sistema de distribución.^{52, 53}

3.2.4.4. Mecanismos de acción del dióxido de cloro

El dióxido de cloro (ClO_2) es un agente antimicrobiano muy potente, tiene menor efecto microbicida que el ozono, pero es más potente que el cloro. Es efectivo contra bacterias, mohos, levaduras, virus, algas y protozoarios.^{52, 53}

El dióxido de cloro existe en el agua como ClO_2 (poca o ninguna disociación) y, por lo tanto, puede pasar a través de las membranas celulares de las bacterias y destruirlas.

52, 53



Figura 2: ampliación de una micrografía electrónica de transmisión (TEM) 108,000. Organismos *Pseudomonas aeruginosa* después de un minuto de exposición a la solución de dióxido de cloro a 10 mg/L.⁵⁵

El efecto que tiene sobre los virus incluye su adsorción y penetración en la capa proteica de la cápside viral y su reacción con el RNA del virus. Como resultado, el ClO_2 daña la capacidad genética del virus.^{52, 53}

Las investigaciones realizadas en los Estados Unidos y Canadá demostraron que el dióxido de cloro destruye enterovirus, *E. coli* y amebas y es efectivo contra los quistes de *Cryptosporidium* (Finch y otros, 1997).^{52, 53}

El dióxido de cloro reacciona con sustancias orgánicas, generalmente por oxidación. El cloro libre, en presencia de precursores orgánicos, puede formar trihalometanos y otros compuestos halogenados en cambio el dióxido de cloro oxida al ácido húmico, un precursor de los trihalometanos, con lo que minimiza la formación de compuestos halogenados (Aieta y Berg, 1986).^{52, 53}

❖ Mecanismo de acción del Dióxido de cloro Estabilizado

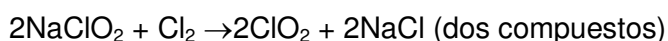
El Dióxido de Cloro estabilizado tiene una acción selectiva o atractiva para la materia orgánica proteínica que causa la liberación del Dióxido de Cloro,

reduce al mínimo el crecimiento de microorganismos. Mientras no haya crecimiento bacteriano que acidifique el medio para causar su liberación, permanecerá inerte. Este efecto residual actúa como inhibidor del crecimiento de microorganismos. Disminuye la carga microbiana y su acción es prolongada, debido a su mecanismo automático de liberación de Dióxido de Cloro. Este mecanismo otorga completa protección contra los microorganismos mientras el Dióxido de Cloro esté presente (Ver **Anexo 4**).

3.2.4.5. Producción del dióxido de cloro

3.2.4.5.1. Producción convencional del dióxido de cloro

El dióxido de cloro se genera comúnmente mediante dos mecanismos: la reacción de clorito de sodio con cloro gaseoso (sistema de dos compuestos químicos) o mediante la reacción de clorito de sodio con hipoclorito de sodio y ácido sulfúrico (sistema de tres compuestos químicos). Las mencionadas reacciones se representan de la siguiente manera: ⁵¹⁻⁵³



3.2.4.5.2. Producción de “dióxido de cloro estabilizado”

En la producción de “dióxido de cloro estabilizado”, las soluciones obtenidas son de hecho clorito de sodio (NaClO_2) que se estabilizó. El “dióxido de cloro estabilizado” se prepara tamponando NaClO_2 con carbonato o con fosfato y peróxido de hidrógeno. Las propiedades del dióxido de cloro estabilizado no son las mismas que el dióxido de cloro (ClO_2) activo ya que su capacidad de oxidación es mucho más débil. Para la producción cuantitativa y rápida de ClO_2 estabilizado se necesitaría agregar una cantidad de solución ácida cuyo pH ideal sería 3; en cambio el ClO_2 es una molécula

intacta. En varias publicaciones, se hace mal uso del nombre de dióxido de cloro ya que es distinta del dióxido de cloro estabilizado y esto puede dar lugar a conceptos erróneos que describen el uso de ClO_2 al 2 %, que corresponde a 20 000 mg/L, lo cual está muy por encima de la cantidad tóxica.⁵¹

Junli *et al.* (2000)⁵⁴ analizaron la forma en la que existe el dióxido de cloro (ClO_2) y el carbonato en la solución llamada "dióxido de cloro estabilizado" que se estabiliza usando carbonato de sodio (Na_2CO_3) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2). Se estudiaron la termoestabilidad, el espectro de absorción UV, la especificidad del cromatograma en papel, la microestructura y el cromatograma iónico de esta solución estabilizada, y se contrastó con ClO_2 y clorito de sodio (NaClO_2). Los resultados mostraron que el ClO_2 en la solución de "dióxido de cloro estabilizado" existe en forma de clorito (ClO_2^-), y el carbonato existe en forma de bicarbonato (HCO_3^-). Por lo tanto, se considera que la solución de "dióxido de cloro estabilizado" es una solución mixta de clorito (ClO_2^-), y bicarbonato (HCO_3^-), cuyo pH fue 8.5.

3.2.4.5.3. Producción de dióxido de cloro activo

El dióxido de cloro (ClO_2) es un gas, que para su producción de manera "activa", debe generarse en el momento de la aplicación mezclando 2 partes separadas, una es la solución acida y la otra es el clorito, después el gas es capturado en un líquido o gel a concentraciones específicas. En el sistema DioxiCare® de Frontier²² el término "dióxido de cloro activo" se utiliza para distinguirlo del dióxido de cloro estabilizado, este sistema produce un complejo de ácido cloroso / dióxido de cloro, que ha logrado una acidez adecuada para su uso en el cuerpo. Mediante la producción de dióxido de cloro activo, se han realizado intentos para mejorar la solución de " ClO_2 estabilizado".^{22,51}

3.2.4.5.4. Producción del dióxido de cloro de alta pureza

El “dióxido de cloro de alta pureza” difiere de otras soluciones que contienen ClO_2 , al producir una tecnología de membrana especial que garantiza que esté absolutamente libre de contaminantes y toxinas. Durante la producción, la estabilidad de la molécula también ha aumentado. Zoltán Noszticzius y sus colegas presentaron para este procedimiento en el 2006 un informe de invención, el cual desde el 2008, ha estado disponible comercialmente en varios países de Europa. El dióxido de cloro de alta pureza producido por esta tecnología está disponible en Hungría por Solumium Oral ²¹ al 0,03 %; Solumium Dental ²¹ al 0,12 % y Solumium ²¹ al 0,3 %. ⁵¹

3.2.4.6. Áreas de aplicación de dióxido de cloro

3.2.4.6.1. Uso industrial del dióxido de cloro

Las fábricas de papel en los EE. UU. generan una cantidad enorme de ClO_2 , 500 toneladas diarias para la pasta blanqueadora. Aunque es más costoso que el cloro, es el material de blanqueo preferido porque las propiedades básicas de la celulosa no se alteran. La industria textil aplica ClO_2 de manera similar, donde la prevención de lesiones a las fibras es importante. Tanto los materiales celulósicos como los sintéticos se procesan de esta manera, incluidos algodones, acetatos, rayones, poliésteres, acrílicos y nylons. El algodón no se degrada porque la reacción de oxidación es altamente selectiva hacia los componentes de lignina y hemicelulosa de la fibra. ClO_2 no afecta negativamente a las impresiones o dibujos en papel antiguos, y limpiará documentos antiguos sin dañar las fibras. ⁴⁹

El primer uso de cloro (Cl_2) como un proceso de tratamiento de agua en los EE. UU. ocurrió en la ciudad de Jersey en 1908 y de dióxido de cloro en las Cataratas del Niágara en 1944. El ClO_2 ahora purifica el agua en más de 500 instalaciones de tratamiento de agua en los EE. UU. y muchos más en Europa. Sólo el dióxido de cloro entre los desinfectantes comunes de tratamiento de agua (ozono, cloro, cloramina y dióxido de cloro) no produce signos de malignidad en los animales de prueba. A

menudo, el ClO_2 se aplica para el tratamiento del agua que no sea la desinfección, por ejemplo, para remediar el olor difícil y problemas de sabor. Los fenoles, en particular, se oxidan rápidamente y forman clorofenoles olorosos producidos a menudo por el cloro. ClO_2 se considera el mejor aditivo para oxidar las impurezas de hierro y manganeso en el agua potable, y para eliminar el sabor y el olor debido a las algas. El compuesto también elimina sulfuros de cianuros, aldehídos y mercaptanos. ClO_2 , como se usa en la desinfección del agua, es más esporicida que Cl_2 , es un inactivador de virus más potente e inactivador de quistes y protozoos. En el desbordamiento del agua de lluvia, el ClO_2 ha demostrado ser activo para todos los virus examinados.⁴⁹

Otra aplicación de ClO_2 es en el blanqueo de grasas y harina. La amplia experiencia del blanqueo con dióxido de cloro del sebo (la grasa extraída de restos de carne y animales muertos) ha demostrado que se trata de un proceso de blanqueo químico seguro. El dióxido de cloro convierte selectivamente los cuerpos de color en colores más claros sin un ataque sustancial a los antioxidantes naturales presentes en el aceite que lo protegen contra el envejecimiento y la ranciedad. Los sebos blanqueados con dióxido de cloro cumplen la "Prueba de refinado y blanqueo", son de color estable y ahora se usan para la fabricación de jabones de tocador de la más alta calidad.⁴⁹

Se han realizado muchos estudios de nutrición y toxicología para evaluar el efecto del dióxido de cloro en la harina. El tratamiento de la harina con 200 mg/L, administrado a ratas, no tuvo efecto después de varias generaciones. La harina tratada con hasta 500 mg/L administrada a los cachorros no tuvo un efecto adverso. Trece sujetos humanos fueron alimentados experimentalmente durante seis semanas con productos de harina que fueron tratados con dosis de hasta 400 mg/L no presentaron síntomas tóxicos detectables. La harina blanqueada con dosis normal no se reduce apreciablemente en valor nutritivo. Los ácidos grasos esenciales generalmente no se ven afectados, pero el tocoferol y la cistina se oxidan. Las reacciones de 21 aminoácidos con ClO_2 se

evaluaron usando un ensayo yodométrico, sólo 6 resultaron reactivas a pH 6. Fueron cisteína, histidina, hidroxiprolina, prolina, triptófano y tirosina.⁴⁹

Se han descrito varias otras aplicaciones dentro de la industria alimentaria. El primer uso informado de ClO_2 en la industria conservera fue realizado por Green Giant en Le Sueur, Minnesota, hace más de 30 años. El objetivo era conservar agua y al mismo tiempo controlar las bacterias. Cuando se agrega ClO_2 en lugar de cloro para procesar las aguas recirculadas para limpiar las papas, el subproducto de almidón, previamente extraído para pegar cartones, es mejorado a nivel de grado alimenticio y a un valor de mercado más alto. Además, la necesidad de agua dulce se reduce un 25 %. En este proceso particular, se agrega 10ppm (partes por millón) de ClO_2 al agua de lavado para mantener un 1 ppm de ClO_2 residual. El dióxido de cloro es excelente como desinfectante comercial en el saneamiento de huevos de pavo, y su uso no modifica las propiedades de eclosión de los huevos fértiles. La vida útil de los tomates puede mejorarse mediante el tratamiento con ClO_2 . El ClO_2 también encuentra aplicación en el blanqueo de las cerezas y como un desinfectante en los pezones de las vacas para prevenir la mastitis. La FDA (Agencia que regula la Administración de Medicamentos y Alimentos) ha permitido recientemente el uso de ClO_2 para la desinfección de pollos, carne de res, frutas y verduras.⁴⁹

Masschelein, en su libro Dióxido de cloro, cita lo siguiente:

“El dióxido de cloro destruye los microorganismos en peces, frutas y vegetales; y el tratamiento puede llevarse a cabo sin alterar las cualidades nutritivas y organolépticas del alimento. Tendrá lugar ya sea por inmersión de 30 minutos en una solución acuosa de 50 a 1000 mg/L (50 a 1000 ppm) de ClO_2 o por exposición a aire que contiene de 2000 a 3000 mg/L de ClO_2 . Este es un tratamiento muy favorable para el almacenamiento de alimentos congelados. Los alimentos naturales como el pimiento se pueden esterilizar mediante un tratamiento con aire que contiene de 1000 a 20000 mg/L de ClO_2 . La conservación del queso fundido se ve facilitada por la adición de 100

a 300 mg/L de ClO_2 a la leche utilizada para su fabricación, y de 100 a 400 mg/L a su agua de lavado. El blanqueo de aceites y grasas, en particular los utilizados para las necesidades alimentarias, se lleva a cabo mediante una inyección máxima de 20000 mg/L de ClO_2 . El olor medicinal de la limpieza de los camarones se elimina agregando 40 mg/L al agua de lavado. Una dosis de menos de 100 mg/L de ClO_2 no parece dificultar el sabor ni el valor nutritivo”.⁴⁹

Los productos restantes o residuales en frutas y verduras después del tratamiento con ClO_2 son aparentemente cloruro y una cantidad traza de clorito. Una patente de Frontier Pharmaceutical²² implica la disminución del clorito residual y describe un método para la liberación de ClO_2 a un pH más alto y más fisiológico. Algunas aplicaciones industriales de ClO_2 además del blanqueo o la desinfección incluyen: el tratamiento de cuero, donde ClO_2 oxida puentes disulfuro de queratina; estabilización de esmaltes de vinilo y látex; aditivo en el control de la contaminación del aire para impurezas complejantes tales como mercaptanos y aldehídos; controla los olores de los efluentes del agua de la planta de procesamiento de harina de pescado; un oxidante en la preparación de vacunas; un neutralizante de toxinas; y un grabador de cobre en la fabricación de componentes electrónicos.⁴⁹

3.2.4.6.2. Uso terapéutico humano del dióxido de cloro

A pesar de sus excelentes propiedades, el ClO_2 no se usó en medicina humana hasta la aparición de una fórmula de alta pureza, como la patentada por Solumium®²¹, ya que dicha patente ha logrado realizar un método para producir fácil y rápidamente una solución mucho más pura y libre de contaminación alguna.⁵¹

Se supone que la molécula de dióxido de cloro en solución acuosa es altamente volátil, pero la experiencia demuestra que puede almacenarse durante un período de tiempo más prolongado a temperatura ambiente y preservando su estabilidad durante

más tiempo. El efecto biocida es independiente del pH. Cuando se almacena a temperaturas más bajas, la solución puede reducirse.⁵¹

Las desventajas que hicieron que el ClO_2 no se utilice en medicina son, que altas concentraciones de gas pueden causar edema pulmonar, que la molécula misma ya se conocía desde hace tiempo y por ello las compañías farmacéuticas no tenían ningún interés en investigar el uso de dióxido de cloro debido a las menores ganancias.⁵¹

La pregunta puede ser correcta, si una sustancia responde fuerte y efectivamente contra los microorganismos por qué no es dañina para los animales y humanos. La explicación de esto es que los investigadores que trabajan en las propiedades químicas de ClO_2 encuentran que la selectividad del ClO_2 entre humanos o animales y microbios no se basa en su diferente bioquímica, sino en sus diferentes tamaños. Esta propiedad del llamado "tamaño selectivo" del ClO_2 se demostró al observar el tiempo requerido para transportar la proteína en la membrana y el tiempo requerido para eliminar la bacteria. Cuando se usa 300 mg/L de solución de ClO_2 para eliminar una bacteria de aproximadamente $1\mu\text{m}$ en tamaño, unos pocos milisegundos son suficientes. Debido a que el ClO_2 está limitado a unos pocos minutos debido a su volatilidad, puede penetrar en el tejido solo unas pocas décimas de milímetro.^{9,51}

El organismo vivo es capaz de protegerse contra el dióxido de cloro (ClO_2), a través de su flujo sanguíneo y los procesos de difusión entre las células. El glutatión (GSH) actúa como un antioxidante en el cuerpo porque es un agente reductor debido a su grupo tiol. Protege las capas celulares de los intermediarios oxidantes reactivos, como los radicales libres y el peróxido de hidrógeno. El proceso puede considerarse como una revitalización natural del cuerpo.⁵¹

Anteriormente, los productos de odontología con ClO_2 se usaron por primera vez para blanquear y superar la halitosis. El ClO_2 de alta pureza es utilizado como enjuague bucal siendo eficaz en la eliminación de microorganismos patógenos y biopelículas,

también puede utilizarse con fines preventivos y terapéuticos, ayuda a la curación de infecciones orales, encías e inflamación periodontal. Al reducir la cantidad de compuestos que contienen azufre, compite efectivamente contra la halitosis siendo una propiedad importante porque el enjuague bucal se usa no solo por sus propiedades antisépticas sino también para tener un aliento agradable. En endodoncia, se puede utilizar para irrigar el conducto radicular y eliminar los microorganismos lo más perfectamente posible. Se recomienda el uso como aerosol para la ulceración nasal. También se considera adecuado para la desinfección de heridas.⁵¹

3.2.4.7. Toxicidad del dióxido de cloro y clorito

Hay muchos factores que determinan si la exposición al dióxido de cloro y al clorito lo perjudicará. Estos factores incluyen la dosis (la cantidad), la duración (por cuánto tiempo) y de la manera como entró en contacto con estas sustancias. También debe considerar las otras sustancias químicas a las que usted está expuesto, su edad, sexo, dieta, características personales, estilo de vida y condición de salud.^{10, 49}

El dióxido de cloro y el clorito usualmente entran al cuerpo cuando la gente toma agua que ha sido desinfectada con dióxido de cloro. Debido a que el dióxido de cloro se descompone rápidamente en el aire formando cloro gaseoso y oxígeno, es improbable que usted respire niveles peligrosos de dióxido de cloro. Sin embargo, si usted respira dióxido de cloro, esta sustancia podría ser absorbida a través de los pulmones. Es improbable encontrar clorito en el aire que usted respira. No se sabe si es posible absorber dióxido de cloro o clorito a través de la piel.^{10, 49}

El dióxido de cloro y el clorito actúan rápidamente cuando entran al cuerpo. El dióxido de cloro se transforma rápidamente a iones de clorito, los cuales se descomponen hasta convertirse en iones de cloruro. En el cuerpo, estos iones son utilizados en muchos procesos normales. Algunos iones de cloruro abandonan el cuerpo, principalmente en la orina, en cuestión de horas o días. La mayoría del clorito que no

se descompone también abandona el cuerpo en la orina unos cuantos días luego de la exposición al dióxido de cloro o al clorito.^{10, 49}

El dióxido de cloro y el clorito reaccionan rápidamente en el agua y los tejidos húmedos del cuerpo. Si usted respirara aire que contiene dióxido de cloro gaseoso, podría sufrir irritación de la nariz, la garganta y los pulmones. Si usted tragara grandes cantidades de dióxido de cloro o clorito, podría sufrir irritación de la boca, el esófago o el estómago. La mayoría de las personas no se expondrán al dióxido de cloro o al clorito en cantidades suficientemente altas como para causar daño en otras partes del cuerpo. Sin embargo, si usted se expone a cantidades muy altas de dióxido de cloro o clorito, podría sufrir falta del aliento y otros problemas respiratorios debido al daño que causan estas sustancias a la capacidad de la sangre para transportar oxígeno a través del cuerpo. No hay ninguna evidencia de que el dióxido de cloro o el clorito afectan la reproducción en seres humanos. No hay estudios de cáncer en seres humanos expuestos al dióxido de cloro o al clorito. Basado en información incompleta en seres humanos y en animales, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y la Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE. UU (EPA) han determinado que el dióxido de cloro y el clorito de sodio no son clasificables en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.^{10, 49}

Es probable que los niños expuestos a grandes cantidades de dióxido de cloro o clorito sufran efectos similares a los observados en adultos. Sin embargo, la exposición de niños al dióxido de cloro gaseoso podría reducir la capacidad de la sangre para transportar oxígeno más rápidamente que en adultos. Esto podría hacer más difícil la capacidad para respirar. Partes del cerebro de niños expuestos a grandes cantidades de dióxido de cloro antes de nacer pueden desarrollarse más lentamente que lo normal. Este efecto se ha observado en animales jóvenes, pero no en seres humanos.

^{10, 49}

La Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA), regula el nivel de dióxido de cloro en el aire en el ambiente ocupacional. El límite de exposición ocupacional al dióxido de cloro para una jornada de 8 horas diarias, 40 horas por semana es de 0.1 partes por millón (0,28 miligramos por metro cúbico [mg/m^3]).^{10, 49}

La Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE. UU (EPA), ha establecido una concentración máxima permitida en agua potable de 0.8 miligramos de dióxido de cloro por litro de agua (mg/L) y 1.0 mg/L del ión de clorito.^{10, 49}

Muchas evaluaciones han demostrado que los compuestos de ClO_2 no son tóxicos. Cinco décadas de uso no han indicado ningún efecto adverso sobre la salud. Las principales áreas de uso han sido la desinfección del suministro de agua, la eliminación de sabores y olores no deseados y el blanqueamiento en las industrias de celulosa, papel y textiles. Las pruebas toxicológicas incluyen la ingestión de ClO_2 en agua potable, adiciones al cultivo de tejidos, inyecciones en la sangre, desinfección de semillas, desinfección de huevos de insectos, inyecciones debajo de la piel de animales y en el cerebro de ratones, administrado en quemaduras a más de 1500 ratas, e inyecciones en los tallos de las plantas. Las pruebas "estándar" incluyen, Mutación Ames, Hámster Chino, Ojo de Conejos, Abrasión de Piel, Farmacodinámica y Teratología.^{10, 49}

En un estudio de cultivo tisular, se colocó una solución de dióxido de cloro (Dioxiderm de Frontier²² 100 mg/L) altamente diluido en células CD4 infectadas con H.I.V. Los virus fueron inactivados dentro de la célula, así como en el sobrenadante, y con poco daño a la célula CD4. Las células hijas 6 días después, aunque no tan viables como los controles, no estaban infectadas. Esto es particularmente impresionante teniendo en cuenta que la mayoría de los viricidas son citotóxicos, incluso a altas diluciones. Se demostró una eficacia y no toxicidad similares en las semillas de col infectadas, 4000

semillas fuertemente infectadas con bacterias se remojaron durante aproximadamente ½ hora en desinfectante de ClO_2 . Ninguna bacteria permaneció después de este período, y las semillas crecieron normalmente.^{10, 49}

En los Estados Unidos de Norteamérica, con el fin de reducir la contaminación del aire y el agua, la EPA propone sustituir el blanqueador de cloro habitual por el dióxido de cloro en todas las plantas de celulosa y papel en todo el país. Esto afecta a 350 instalaciones y le cuesta a la industria unos \$ 4 mil millones. Con la perspectiva de cambiar del cloro al dióxido de cloro en su suministro de agua, EPA y American Water Works (empresa de servicios básicos que opera en Estados Unidos y Canadá) en el pasado han encargado más de 100 documentos y estudios sobre la toxicidad del ClO_2 . Se han realizado muchos estudios controlados en animales sobre los efectos de la ingestión de clorito de sodio y dióxido de cloro a partir de concentraciones de 1 a 1000 mg/L. Metabólicamente, tanto ClO_2 como ClO_2^- se reducen rápidamente después de la ingestión. Las pruebas de cloro radiactivo muestran que la mayor parte del cloro marcado se excreta de la orina en forma de ion Cl^- con una pequeña cantidad de ClO_2^- . El nivel de efecto no observado (NOEL) de los estudios de ingestión en animales que implican ClO_2 y ClO_2^- , es de 100 ppm, aproximadamente la concentración del gel DioxiDerm de Frontier²² para uso tópico. La vida media para la eliminación de ClO_2 y ClO_2^- del plasma es menos de la mitad que la de hipoclorito (HOCl).^{10, 49}

En un estudio, voluntarios humanos bebieron ClO_2 o ClO_2^- en una solución de hasta 24 ppm y no mostraron efectos adversos. Varios estudios examinaron los efectos sobre la toxicidad reproductiva o la teratología. No hay evidencia de malformación fetal o defectos de nacimiento en las concentraciones de ClO_2 , en la vía de beber ni en la piel, hasta 100 ppm. Con la alimentación prolongada, la toxicidad se produce

principalmente en los glóbulos rojos. Las ratas alimentadas hasta 1000 mg/L crónicamente durante 6 meses no mostraron cambios hematológicos significativos. Sin embargo, después de 9 meses, los recuentos de glóbulos rojos, el hematocrito y la hemoglobina disminuyeron en todos los grupos de tratamiento.^{10, 49}

La falta de toxicidad a largo plazo, pero a un nivel bajo, se ve dramáticamente ilustrada por dos estudios separados en los que ratas, y abejas melíferas, fueron alimentadas con ClO_2 en altas dosis durante un período de dos años. No se observaron efectos nocivos con hasta 100 mg/L agregados al suministro de agua.^{10, 49}

En un estudio de sensibilización de la piel, se inyectaron líquido y gel de ClO_2 (similar a Dioxiderm de Frontier²²) intradérmicamente en cobayos, 10 veces en aproximadamente 3 semanas. No se observó reacción de sensibilidad. En el sitio de inyección líquida continua, se desarrollaron áreas necróticas debido al bajo pH de 2,7. Este daño fue reversible. Sin embargo, el pH del Líquido Dioxiderm gel de Frontier²² es mucho más alto a pH 4, y probablemente evitaría este daño temporal. Un estudio de irritación ocular en conejos indicó enrojecimiento en la conjuntiva después de una hora, que se volvió normal después de 24 horas. La córnea y el iris permanecieron sin cambios después del tratamiento.^{10, 49}

La desinfección rápida y la no toxicidad son propiedades que normalmente no se encuentran una al lado de la otra en el mismo compuesto. Por ejemplo, el formaldehído y el ácido peracético son fuertes y, a menudo, se utilizan como esterilizantes, pero también son tóxicos e irritantes. La clorhexidina y los compuestos de yodo inhiben la curación de heridas. Debido a que tanto la velocidad de desactivación como la no toxicidad se combinan en líquidos y geles de Frontier²², se

abren nuevas posibilidades para productos tópicos importantes, así como para la desinfección comercial de superficies.^{10, 49}

No hay informes en la literatura científica de toxicidad por contacto con la piel, ingestión, o mutagenicidad. Parecería que la aplicación efectiva de este compuesto como un medicamento tópico para enfermedades de la piel, como un desinfectante en los alimentos, así como un esterilizante en frío en los instrumentos y artículos de vidrio, es algo que debería haberse realizado hace mucho tiempo.^{10, 49}

IV. HIPÓTESIS Y VARIABLES

4.1. Formulación de la hipótesis

Existe actividad antimicrobiana in vitro del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta del dorso de la lengua.

4.2. Variables de estudio

Variable Independiente:

Dióxido de cloro estabilizado.

Variable Dependiente:

Actividad antimicrobiana del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua.

Variables de control:

Control positivo: Clorhexidina 0,12 %

Control negativo: Agua destilada estéril

4.3. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA	VALOR
Dióxido de cloro estabilizado	Es una solución que contiene dióxido de cloro activo.	Grado de concentración del dióxido de cloro estabilizado	Cantidad de dióxido de cloro estabilizado diluido en agua destilada	Cuantitativa ordinal	0,30 %
					0,12 %
					0,03 %
Actividad antimicrobiana en flora mixta de dorso de lengua	Actividad de determinadas sustancias capaces de inhibir microorganismos.	Grado de actividad antimicrobiana	Nivel de sensibilidad según diámetro del halo de inhibición medido en mm. y según las pautas de Duraffourd. ⁵⁶	Cualitativa ordinal	Sensibilidad nula ≤ 8 mm. de diámetro
					Sensibilidad límite 9-14 mm. de diámetro
					Sensibilidad media 15-19 mm. de diámetro
					Sumamente sensible ≥ 20 mm. de diámetro

V. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. Tipo de investigación

- Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registros de la información es: **Prospectiva**.
- Según el periodo y secuencia de estudio: **Transversal**.
- Según el análisis y alcance de los resultados: **Experimental**.

5.2. Población y muestra

5.2.1. Población

Pacientes que acudieron a atenderse a la Clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el año 2017.

5.2.2. Muestra

18 pacientes que acudieron a atenderse a la Clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, muestra no probabilística por conveniencia.

5.2.3. Selección de la muestra

Se examinaron a los pacientes que acudieron a atenderse a la Clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión establecidos.

5.2.4. Criterios de inclusión

- Pacientes de 18 años a más, sistémicamente sanos (ASA I).
- Pacientes que presenten lengua saburral.
- Pacientes que acepten dar su consentimiento informado.

5.2.5. Criterios de exclusión

- Pacientes menores de 18 años de edad.
- Pacientes con enfermedad sistémica leve, controlada y no incapacitante (ASA II).
- Pacientes con enfermedad sistémica grave, pero no incapacitante (ASA III).
- Pacientes con enfermedad sistémica grave e incapacitante, que constituye además amenaza constante para la vida (ASA IV).
- Pacientes que aun reuniendo los criterios de inclusión no deseen participar.

5.3. Materiales

5.3.1. Material microbiológico:

- 18 caldos TSB (Caldo Tripticasa Soya)
- 18 caldos BHI (Infusión Cerebro Corazón)
- 36 medios de Agar BHI (Infusión Cerebro Corazón)

5.3.2. Material de soluciones y tiras reactivas químicas:

- Dióxido de cloro estabilizado 5 % (marca Dioxill Plus de la empresa Juandy E.I.R.L Perú)
- Gluconato de clorhexidina 0,12 %
- Agua destilada estéril
- Tiras indicadoras para dióxido de cloro
- Tiras indicadoras para pH

5.3.3. Material de vidrio:

- Espátula Drigalsky
- 03 fioles de 50 mL
- 03 pipetas de 10 mL, 5 mL, 1mL
- 01 beaker de 150mL
- 04 baguetas

5.3.4. Otros materiales:

- Hisopos Flockeados estériles
- 06 envases de polietileno de alta densidad de 60 mL
- 180 discos de papel filtro estéril
- 180 tips estériles
- Micropipeta
- Pinzas estériles
- Guantes estériles
- Campos, plumón indeleble
- Mechero y ron de quemar
- Estufa para incubación
- Cámara fotográfica

5.4. Método

5.4.1. Instrumento

- Información del estudio y formulario de consentimiento (Ver **Anexo 1**).
- Ficha de recolección de datos (Ver **Anexo 2 y 3**).

5.4.2. Procedimientos y técnicas

Obtención del dióxido de cloro estabilizado

Se obtuvieron las diluciones del dióxido de cloro estabilizado 5 % (marca Dioxill Plus de la empresa Juandy E.I.R.L Perú. Ver **Anexo 4 y 5**) a las concentraciones de 0,30 %; 0,12 % y 0,03 %. Las diluciones se hicieron únicamente con agua estéril, luego fueron depositadas en envases de polietileno de alta densidad de 60 mL de color ámbar y se midió el pH de

cada solución con las tiras indicadoras de pH (marca MColorpHast™ de la empresa Merck KGaA. Alemania).

Verificación de la concentración de dióxido de cloro activo

Se verificó la concentración del dióxido de cloro activo de cada solución con las tiras indicadoras de dióxido de cloro (marca Insta-Test® Analytic High Range Chlorine Dioxide de la empresa LaMotte Company USA. Ver **Anexo 6**).

Obtención de la muestra de flora mixta del dorso de la lengua

La muestra se obtuvo directamente de la saburra presente en el dorso de la lengua para ello se utilizó dos hisopos flockeados estériles (marca FLOQSwabs™ de la empresa COPAN Diagnostics Inc. USA) por paciente, uno de ellos se depositó en el caldo TSB (Caldo Tripticasa Soya) para bacterias aerobias y el otro en el caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) para bacterias exigentes metabólicamente y anaerobias facultativas. Luego fueron transportados al Laboratorio de Microbiología, en un tiempo no mayor de 15 minutos para su procesamiento. Los medios de transporte permitirán mantener viables a las bacterias presentes en la muestra.

Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro*

Método de Difusión en Agar

Fundamento:

La inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido la que se evidencia con la formación de halos de inhibición.

Muestra de dióxido de cloro

El dióxido de cloro en concentraciones de 0,30 %; 0,12 % y 0,03 %.

Control negativo

Se utilizó agua destilada estéril.

Control positivo.

Se utilizó clorhexidina al 0,12 %

Inoculación e incubación de la muestra

Bajo condiciones estériles se procedió a sembrar 100 µl de la muestra proveniente del medio de transporte, utilizando una micropipeta y puntas de pipeta estériles; extendiéndola con la espátula de Drigalsky en Agar BHI (Infusión Cerebro Corazón) y tratando de no dejar ninguna parte de la superficie libre del inóculo.

Con pinzas estériles se colocó en cada placa de medio de cultivo 5 discos de papel de filtro estériles de la siguiente manera: 1 disco de papel de filtro con 20 µl de dióxido de cloro estabilizado al 0,30 %; 1 disco de papel de filtro con 20 µl de dióxido de cloro estabilizado al 0,12 %; 1 disco de papel de filtro con 20 µl de dióxido de cloro estabilizado al 0,03 %; 1 disco de papel filtro con 20 µl de clorhexidina 0,12 % (control positivo) y 1 disco de papel de filtro con 20 µl de agua destilada estéril (control negativo).

Se obtuvieron 36 placas que fueron divididas en dos grupos de 18 placas cada uno, las placas del primer grupo fueron llevadas a incubar a 37 °C por 24 horas en condiciones de aerobiosis y las placas del segundo grupo fueron llevadas a incubar a 37 °C por 24 horas en condiciones anaerobiosis facultativa.

Lectura de los halos de inhibición

Luego de 24 horas de incubación se realizó la lectura con la observación y medición del diámetro en milímetros (mm) de las zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano, se registró los diámetros promedios que se formaron alrededor de cada disco de papel filtro en las fichas de recolección de datos (Ver **Anexo 2 y 3**).

Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro*

Para la interpretación de los resultados en la evaluación de tipo cualitativa se tomó como referencia los valores de sensibilidad según Duraffourd.⁵⁶ Los cuales se clasifican según el diámetro del halo de inhibición de la siguiente manera:

- Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm.
- Sensibilidad límite (Sensible=+) de 9 a 14 mm.
- Sensibilidad media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm.
- Sumamente sensible (S.S.= +++) si fue igual o superior a 20 mm.

Coloración Gram

Se realizó dos frotices, uno proveniente del cultivo de Agar BHI en condiciones de aerobiosis y el otro del cultivo de Agar BHI en condiciones de anaerobiosis facultativa; luego se procedió a realizar la Coloración Gram, respectivamente.

5.4.3. Recolección de datos

Los datos obtenidos se registraron en una ficha elaborada previamente para este fin (Ver **Anexo 2 y 3**). La medición del diámetro de los halos de inhibición fue en milímetros (mm), se midió en las 36 placas con medio de cultivo Agar BHI (Infusión Cerebro Corazón). Cada placa con 5 discos de papel filtro embebidos con dióxido de cloro estabilizado 0,30 %; 0,12 %; 0,03 %; como control negativo agua destilada y como control positivo clorhexidina al 0,12 %, respectivamente.

5.5. Plan de tabulación y análisis estadístico

Para el procesamiento y análisis de datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 24. Con la información recogida se conformó una base de datos de acuerdo a las variables estudiadas, luego se realizó los análisis estadísticos descriptivos con medidas de tendencia central tal como la media y medidas de dispersión como desviación estándar. Para los análisis estadísticos inferenciales se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, donde los datos fueron procesados aplicándose los intervalos de confianza al 95 %, para determinar el nivel de significancia de los resultados ($p < 0,05$). Para su representación gráfica se utilizó tablas, se presentó también una figura de caja y línea comparando la actividad antimicrobiana entre los grupos, tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis facultativa.

VI. RESULTADOS

Se realizaron 36 ensayos válidos: 18 en condiciones de aerobiosis y 18 en condiciones de anaerobiosis facultativa.

Las observaciones microscópicas a la Coloración Gram de los cultivos en el Agar, mostraron en el grupo de bacterias que crecieron en condiciones de aerobiosis abundantes cocos en cadena y diplococos, también se encontró bacilos pero en menor proporción. En el grupo de bacterias que crecieron en condiciones de anaerobiosis facultativa se encontró abundantes cocos en cadena.

En cada uno de los ensayos se clasificó al dióxido de cloro (ClO_2) estabilizado según las diluciones obtenidas a la concentración del 0,30 %; 0,12 % y 0,03 %, además de la clorhexidina como control positivo y el agua destilada como control negativo.

El método de difusión en Agar, permitió la evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de las diferentes concentraciones del dióxido de cloro (ClO_2) estabilizado. Se evidenció la formación de halos de inhibición en una de las concentraciones del dióxido de cloro estabilizado, estos resultados fueron clasificados según la escala de medición de Duraffourd.

En la obtención de las diluciones del dióxido de cloro (ClO_2) estabilizado a sus diferentes concentraciones, se comprobó la presencia de dióxido de cloro activo con las tiras indicadoras de dióxido de cloro (marca Insta-Test® Analytic High Range Chlorine Dioxide de la empresa LaMotte Company USA) y también se midió el pH de cada solución con las tiras indicadoras de pH (marca MColorpHast™ de la empresa Merck KGaA. Alemania). Se evidenció que para la concentración del 0,30 % hay de

dióxido de cloro activo un aproximado de 100 mg/L con un pH de 8,5; para la concentración del 0,12 % hay de dióxido de cloro activo un aproximado de 50 mg/L con un pH de 7,5 y para la concentración del 0,03 % hay de dióxido de cloro activo un aproximado de 25 mg/L con un pH de 6,5. **Tabla 1.**

Tabla 1. Concentración de dióxido de cloro activo y valores de pH según las diferentes concentraciones del dióxido de cloro estabilizado.

Concentración		Valores de pH
*ClO ₂ estabilizado	*ClO ₂ activo	
0,30 %	100 mg/L	8,5
0,12 %	50 mg/L	7,5
0,03 %	25 mg/L	6,5

*ClO₂: Dióxido de cloro

6.1. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *in vitro* DEL DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO EN FLORA MIXTA DE DORSO DE LENGUA

Los valores de los halos de inhibición incluyen el diámetro del disco de papel filtro: 5 mm.

Los halos de inhibición de mayor diámetro se presentaron únicamente en la concentración de ClO₂ estabilizado al 0,30 %, con una media de 8,1 mm. Las concentraciones de ClO₂ estabilizado al 0,12 % y 0,03 % no presentaron halo de inhibición sobre la flora mixta del dorso de la lengua, los 5 mm indican el diámetro del disco de papel filtro. La Clorhexidina al 0,12 % presentó halos de inhibición de mayor

diámetro que el ClO₂ estabilizado al 0,30 %, con una media de 12 mm. Como era de esperar el control negativo (agua destilada estéril) no presentó halos de inhibición.

Tabla 2.

Tabla 2. Halos de inhibición promedio según las diferentes concentraciones del dióxido de cloro estabilizado en condiciones de aerobiosis.

Concentración		N	Media (mm)	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
*ClO ₂ estabilizado	*ClO ₂ activo					
0,30 %	100 mg/L	18	8,1	2,4	5	12
0,12 %	50 mg/L	18	5	0	5	5
0,03 %	25 mg/L	18	5	0	5	5
Clorhexidina 0,12 %		18	12	0,9	10	13
Control negativo		18	5	0	5	5

*ClO₂: Dióxido de cloro

Los valores de los halos de inhibición incluyen el diámetro del disco de papel filtro: 5 mm.

Los halos de inhibición de mayor diámetro se presentaron únicamente en la concentración de ClO₂ estabilizado al 0,30 %, con una media de 7,2 mm. Las concentraciones de ClO₂ estabilizado al 0,12 % y 0,03 % no presentaron halo de inhibición sobre la flora mixta del dorso de la lengua, los 5 mm indican el diámetro del disco de papel filtro. La Clorhexidina al 0,12 % presentó halos de inhibición de mayor diámetro que el ClO₂ estabilizado al 0,30 %, con una media de 12 mm. Como era de esperar el control negativo (agua destilada estéril) no presentó halos de inhibición.

Tabla 3.

Tabla 3. Halos de inhibición promedio según las diferentes concentraciones del dióxido de cloro estabilizado en condiciones de anaerobiosis facultativa.

Concentración		N	Media (mm)	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
*ClO ₂ estabilizado	*ClO ₂ activo					
0,30 %	100 mg/L	18	7,2	2	5	10
0,12 %	50 mg/L	18	5	0	5	5
0,03 %	25 mg/L	18	5	0	5	5
Clorhexidina 0,12 %		18	12	0,9	8	13
Control negativo		18	5	0	5	5

*ClO₂: Dióxido de cloro

6.2. COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *in vitro* DEL DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO EN FLORA MIXTA DE DORSO DE LENGUA

Se utilizó la prueba Pos-Hoc de Kruskal Wallis para comparar las medias entre grupos. Los halos de inhibición promedio del dióxido de cloro (ClO₂) estabilizado al 0,30 % fue de 8,1 mm y de las concentraciones al 0,12 % y 0,03 % fueron de 5 mm, se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de ClO₂ estabilizado al 0,30 % y las concentraciones menores ($p < 0,05$). El ClO₂ estabilizado al 0,12 % y 0,03 % no presentaron halos de inhibición en flora mixta de dorso de lengua, los 5 mm indica el diámetro de los discos de papel filtro, se determinó que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Existe diferencia estadísticamente significativa entre la clorhexidina al 0.12% (control positivo) y las concentraciones de ClO₂ estabilizado al 0.30%, 0.12% y 0.03%, donde

los halos de inhibición promedio de todas las concentraciones de ClO_2 estabilizado fueron menores comparadas al control positivo que fue de 12mm ($p < 0,05$).

No existe diferencia estadísticamente significativa entre el control negativo (agua destilada) y las concentraciones de ClO_2 estabilizado al 0.12% y 0.03% ($p > 0,05$).

Existe diferencia estadísticamente significativa entre el control negativo y la concentración de ClO_2 estabilizado al 0.30% ($p < 0,05$). **Tabla 4.**

Tabla 4. Comparación entre parejas de grupo en condiciones de aerobiosis.

Dióxido de cloro estabilizado	Significancia	
0,30 % vs 0,12 %	$p(0,001) < 0,05$	Significativo
0,30 % vs 0,03 %	$p(0,001) < 0,05$	Significativo
0,12 % vs 0,03 %	$p(1,000) > 0,05$	No significativo
Clorhexidina vs 0,30 %	$p(0,032) < 0,05$	Significativo
Clorhexidina vs 0,12 %	$p(0,001) < 0,05$	Significativo
Clorhexidina vs 0,03 %	$p(0,001) < 0,05$	Significativo
Control negativo vs 0,30 %	$p(0,001) < 0,05$	Significativo
Control negativo vs 0,12 %	$p(1,000) > 0,05$	No significativo
Control negativo vs 0,03 %	$p(1,000) > 0,05$	No significativo

Los halos de inhibición promedio del dióxido de cloro (ClO_2) estabilizado al 0,30 % fue de 7,2 mm y de las concentraciones al 0,12 % y 0,03 % fueron de 5 mm, se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de ClO_2 estabilizado al 0,30 % y las concentraciones menores ($p < 0,05$). El ClO_2 estabilizado al 0, 12 % y 0,03 % no presentaron halos de inhibición en flora mixta de dorso de

lengua, los 5 mm indica el diámetro de los discos de papel filtro, se determinó que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Existe diferencia estadísticamente significativa entre la clorhexidina al 0,12 % (control positivo) y las concentraciones de ClO_2 estabilizado al 0,30 %; 0,12 % y 0,03 %, donde los halos de inhibición promedio de todas las concentraciones de ClO_2 estabilizado fueron menores comparadas al control positivo que fue de 12mm ($p < 0,05$).

No existe diferencia estadísticamente significativa entre el control negativo (agua destilada) y las concentraciones de ClO_2 estabilizado al 0,12 % y 0,03 % ($p > 0,05$).

Existe diferencia estadísticamente significativa entre el control negativo y la concentración de ClO_2 estabilizado al 0,30 % ($p < 0,05$). **Tabla 5.**

Tabla 5. Comparación entre parejas de grupo en condiciones de anaerobiosis facultativa.

Dióxido de cloro estabilizado	Significancia	
0,30 % vs 0,12 %	$p(0,016) < 0,05$	Significativo
0,30 % vs 0,03 %	$p(0,016) < 0,05$	Significativo
0,12 % vs 0,03 %	$p(1,000) > 0,05$	No significativo
Clorhexidina vs 0,30 %	$p(0,002) < 0,05$	Significativo
Clorhexidina vs 0,12 %	$p(0,001) < 0,05$	Significativo
Clorhexidina vs 0,03 %	$p(0,001) < 0,05$	Significativo
Control negativo vs 0,30 %	$p(0,016) < 0,05$	Significativo
Control negativo vs 0,12 %	$p(1,000) > 0,05$	No significativo
Control negativo vs 0,03 %	$p(1,000) > 0,05$	No significativo

6.3. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *in vitro* DEL DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO EN FLORA MIXTA DE DORSO DE LENGUA SEGÚN LA ESCALA DE DURAFFOURD

Se organizó los resultados según la escala de medición de Duraffourd, en el que se obtuvo que para la concentración del 0,30 % de ClO_2 estabilizado, en el 50 % de los casos, los halos de inhibición en flora mixta de dorso de lengua fueron de 9 a 12 mm. lo que indica una actividad antimicrobiana límite (sensibilidad límite); en cambio las demás concentraciones 0,12 % y 0,03 % presentaron halos de inhibición de 5 mm. lo que indica una actividad antimicrobiana nula (sensibilidad nula).

La clorhexidina presentó halos de inhibición de 10 a 13 mm. en el 100 % de los casos, lo que indica una actividad antimicrobiana límite (sensibilidad límite).

El control negativo presentó una actividad antimicrobiana nula en el 100 % de los casos (sensibilidad nula). **Tabla 6.**

Tabla 6. Actividad antimicrobiana de las diferentes concentraciones del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua en condiciones de aerobiosis.

Concentración		Actividad antimicrobiana del dióxido de cloro (ClO ₂) estabilizado según Durauffourd							
		Sensibilidad nula (-) ≤ 8 mm.		Sensibilidad límite (+) 9-14 mm.		Sensibilidad media (++) 15-19 mm.		Sumamente sensible (+++) ≥ 20 mm.	
		N	%	N	%	N	%	N	%
0,30 %	100 mg/L	9	50	9	50	0	0	0	0
0,12 %	50 mg/L	18	100	0	0	0	0	0	0
0,03 %	25 mg/L	18	100	0	0	0	0	0	0
Clorhexidina 0,12 %		0	0	18	100	0	0	0	0
Control negativo		18	100	0	0	0	0	0	0

Valores de sensibilidad según Durauffourd. ⁵⁶

Se organizó los resultados según la escala de medición de Durauffourd, en el que se obtuvo que para la concentración del 0,30 % de ClO₂ estabilizado, en el 39 % de los casos, los halos de inhibición en flora mixta de dorso de lengua fueron de 9 a 10 mm, lo que indica una actividad antimicrobiana límite (sensibilidad límite); en cambio las demás concentraciones 0,12 % y 0,03 % presentaron halos de inhibición de 5 mm. lo que indica una actividad antimicrobiana nula (sensibilidad nula). La clorhexidina presentó halos de inhibición de 9 a 13 mm. en el 94 % de los casos, lo que indica una actividad antimicrobiana límite (sensibilidad límite). El control negativo presentó una actividad antimicrobiana nula en el 100 % de los casos (sensibilidad nula). **Tabla 7.**

Tabla 7. Actividad antimicrobiana de las diferentes concentraciones del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua en condiciones de anaerobiosis facultativa.

Concentración		Actividad antimicrobiana del dióxido de cloro (ClO ₂) estabilizado según Duraffourd							
		Sensibilidad nula (-) ≤ 8 mm.		Sensibilidad límite (+) 9-14 mm.		Sensibilidad media (++) 15-19 mm.		Sumamente sensible (+++) ≥ 20 mm.	
		N	%	N	%	N	%	N	%
0,30 %	100 mg/L	11	61	7	39	0	0	0	0
0,12 %	50 mg/L	18	100	0	0	0	0	0	0
0,03 %	25 mg/L	18	100	0	0	0	0	0	0
Clorhexidina 0,12 %		1	6	17	94	0	0	0	0
Control negativo		18	100	0	0	0	0	0	0

Valores de sensibilidad según Duraffourd.⁵⁶

Los halos de inhibición de mayor diámetro se presentaron en la concentración del dióxido de cloro estabilizado al 0,30 %, con una media de 8,1 mm; las demás concentraciones dieron una media de 5 mm, que es la medida del diámetro del disco de papel filtro, no presentando halo de inhibición en flora mixta de dorso de lengua. La clorhexidina al 0,12 % presentó halos de inhibición de mayor diámetro que el dióxido de cloro estabilizado al 0,30 %, con una media de 12 mm. El control negativo no presentó halos de inhibición. **Figura 1.**

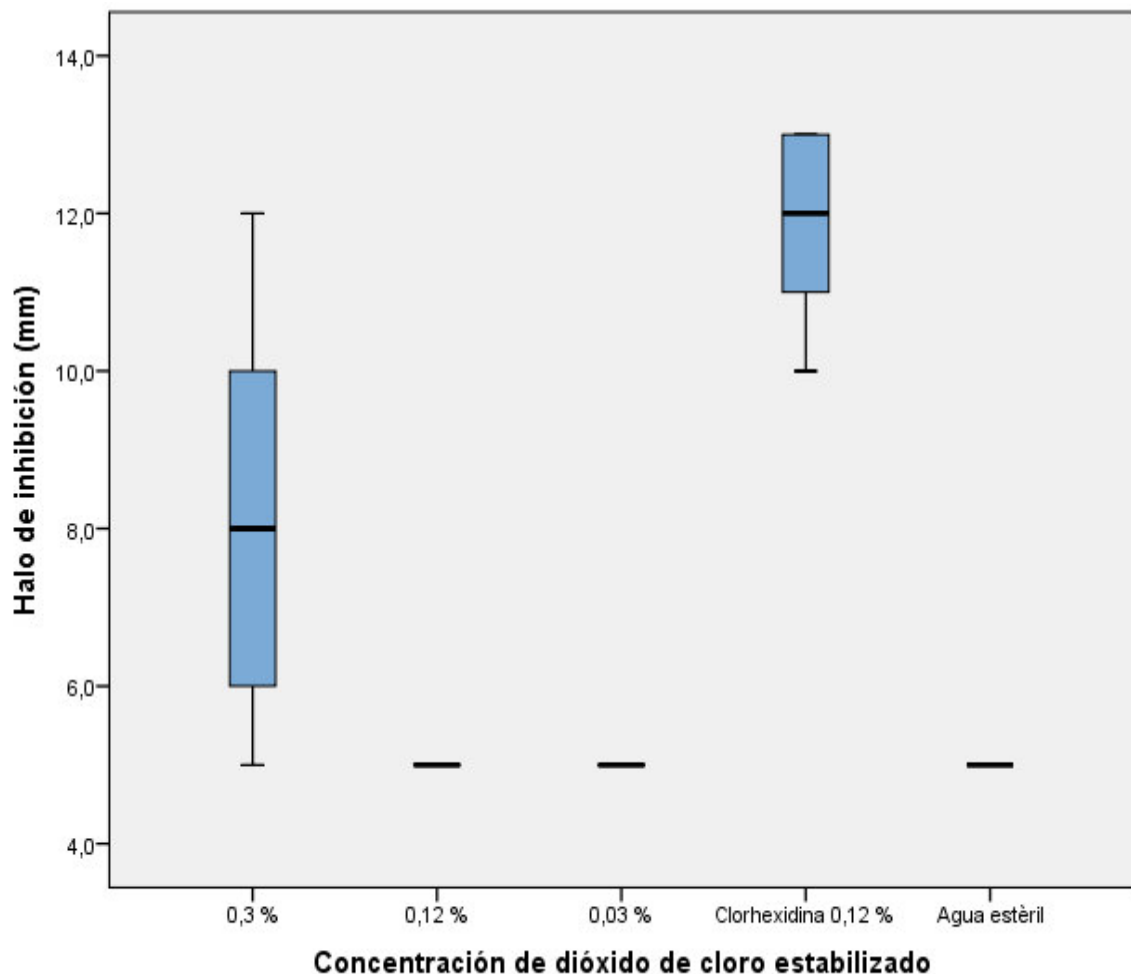


Figura 1. Halos de inhibición promedio según diferentes concentraciones del dióxido de cloro estabilizado en condiciones de aerobiosis.

Los halos de inhibición de mayor diámetro se presentaron en la concentración del dióxido de cloro estabilizado al 0,30 %, con una media de 7,2 mm; las demás concentraciones dieron una media de 5 mm, que es la medida del diámetro del disco de papel filtro, no presentando halo de inhibición en flora mixta de dorso de lengua. La clorhexidina al 0,12 % presentó halos de inhibición de mayor diámetro que el dióxido de cloro estabilizado al 0,30 %, con una media de 12 mm. El control negativo no presentó halos de inhibición. **Figura 2.**

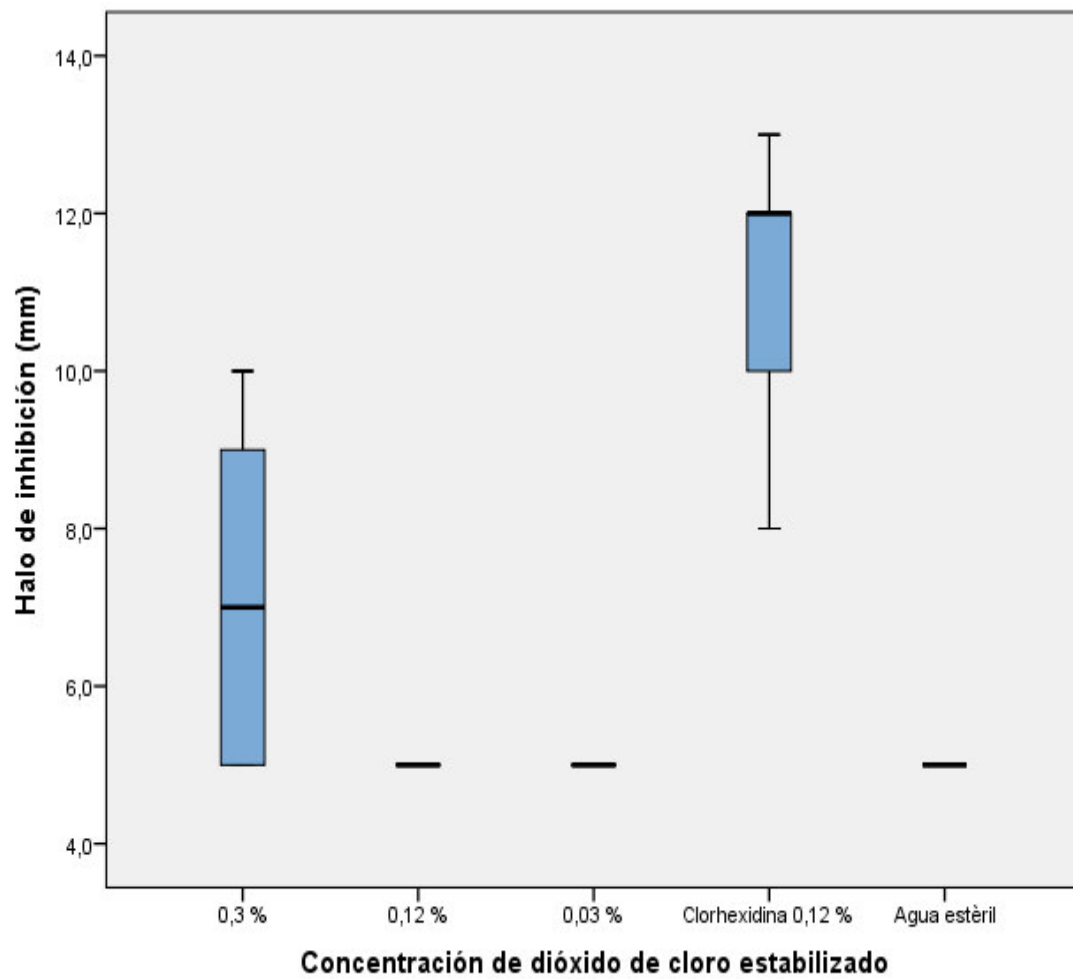


Figura 2. Halos de inhibición promedio según diferentes concentraciones del dióxido de cloro estabilizado en condiciones de anaerobiosis.

VII. DISCUSIÓN

En los últimos años se ha intensificado las investigaciones acerca de la actividad antimicrobiana del dióxido de cloro contra un amplio rango de microorganismos patógenos como bacterias, hongos, virus y parásitos, considerándolo el antiséptico local ideal ⁹ encontrando que el dióxido de cloro actúa de manera selectiva en función al tamaño, ya que puede eliminar organismos de tamaño micrométrico rápidamente, pero no puede causar daños reales a organismos mucho más grandes, como los animales o los humanos, ya que no puede penetrar profundamente en sus tejidos vivos.

Para determinar la actividad antimicrobiana del dióxido de cloro se han utilizado las concentraciones basadas en investigaciones previas, tal es el caso de Soares et al. ³⁷ quienes demostraron el efecto clínico de un enjuague bucal que contiene dióxido de cloro a la concentración de 0,30 % en la reducción de compuestos de azufre volátiles (VSC). Herczegh et al. ³⁶ demostraron la efectividad *in vitro* del dióxido de cloro a la concentración de 0,12 %, para eliminar el biofilm bacteriano proveniente del *Enterococcus faecalis*. También Herczegh et al. ³⁸ demostraron la eficiencia del dióxido de cloro a la concentración de 0,03 % en microorganismos patógenos naturales de la flora oral y en biopelículas bacterianas *in vitro*. Los autores probaron su eficiencia frente a *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida Albicans*, *Veillela alcalescens* y *Eikenella corrodens*.

El dióxido de cloro activo presente en la solución denominada “dióxido de cloro estabilizada” al 5 % (marca Dioxill Plus de la empresa Juandy E.I.R.L Perú. Ver **Anexo 4 y 5**), ha servido de base para la elaboración de diluciones a las concentraciones de 0,30 %, 0,12 % y 0,03 %, encontrándose que el agente activo “dióxido de cloro” está

presente en menor proporción, esto fue verificado con las tiras reactivas para dióxido de cloro (marca Insta-Test® Analytic High Range Chlorine Dioxide de la empresa LaMotte Company USA. Ver **Anexo 6**), donde se pudo apreciar que para la concentración del 0,30 % hay de dióxido de cloro activo un aproximado de 100 mg/L (miligramos por litro), para 0,12 % hay de dióxido de cloro activo un promedio de 50 mg/L y para 0,03 % hay de dióxido de cloro activo un aproximado de 25 mg/L. Este resultado está en concordancia a lo descrito por Junli et al.⁵⁴ que concluyeron que la solución de dióxido de cloro estabilizada es una solución mixta que tiene principalmente clorito y bicarbonato. La solución de dióxido de cloro estabilizado utilizada en el presente estudio tiene poca cantidad de dióxido de cloro activo; pero al ser una solución que tiene principalmente clorito se deduce que al agregarle una solución ácida o encontrarse en un medio ácido (como el caso del pH de la saliva en boca el cual en condiciones patológicas puede descender a pH 4) se podría obtener más dióxido de cloro activo. Sin embargo es necesario tener en cuenta que el pH de la saliva presente en lengua de un individuo sano oscila entre 6,5 a 7 lo que liberaría poco dióxido de cloro; pero si el individuo se encuentra cursando una enfermedad de importancia odontológica el pH se vería afectado, tornándolo más ácido, lo cual facilitaría la liberación del dióxido de cloro activo; en cambio en condiciones *in vitro* esto se vería limitado.

El dióxido de cloro estabilizado y más aún el dióxido de cloro (molécula intacta) han demostrado ser eficaces en bacterias anaerobias y aerobias como lo demuestran los antecedentes de la presente investigación.²⁷⁻⁴⁵ Específicamente para el caso del dióxido de cloro estabilizado evaluado en el presente estudio, podemos destacar los resultados de las siguientes investigaciones, tal es el caso de Grootveld et al.²⁷ que demostraron que el dióxido de cloro y el anión clorito presente en el enjuague bucal formulado por ellos, redujo los niveles de *Streptococcus mutans* y lactobacilos

salivales. Mohammad et al.²⁸ demostraron la eficacia de un enjuague bucal de dióxido de cloro al 0,8 % (Dioxident) en el manejo clínico y microbiológico de la candidiasis crónica atrófica, donde el número de unidades formadoras de colonias de *Candida albicans* se redujeron. Peruzzo et al.³⁰ que demostraron que un enjuague bucal que contiene ClO₂ estabilizado puede mantener los compuestos de azufre volátiles en niveles muy bajos. Shinada et al.³³ demostraron que el dióxido de cloro estabilizado parece ser eficaz en la reducción de la placa, la biopelícula de la lengua y de los recuentos de *Fusobacterium nucleatum* en la saliva. Drake y Villahauer³⁵ demostraron que el enjuague bucal a base de dióxido de cloro estabilizado fue efectivo en la muerte contra los patógenos periodontales (*Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces odontolyticus*, *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros* y *Prevotella nigrescens*) a los cinco minutos.

La metodología de los estudios del dióxido de cloro estabilizado antes mencionados no es comparable con la presente investigación, ya que dichos antecedentes disponen de patentes y productos dentales disponibles en el mercado de cada país; en cambio en el Perú no está disponible aun como producto dental pero sí como potabilizador de agua y para la desinfección de frutas y verduras (Ver **anexo 4**), es por ello que se evaluó de manera *in vitro* y hasta la concentración de 0,30 % (100 mg/L) en base a la concentración máxima para enjuague bucal encontrada en la literatura, como lo evidenciaron Mohammad et al.²⁸ donde usaron un enjuague bucal de dióxido de cloro estabilizado al 0,8 % que contenía 100 mg/L de dióxido de cloro activo.

VIII. CONCLUSIONES

- La presente investigación demostró que existe actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta del dorso de la lengua a la concentración de 0,30 % tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis facultativa.
- Se evidencia en el método de difusión en Agar, que la actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua a la concentración del 0,30 % es de una sensibilidad límite según Duraffourd tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis facultativa.
- Las concentraciones de dióxido de cloro estabilizado al 0,12 % y 0,03 % no presentan actividad antimicrobiana *in vitro* en flora mixta de dorso de lengua tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis facultativa.

IX. RECOMENDACIONES

- Se recomienda trabajar en futuras investigaciones con más diluciones que permitan evaluar no sólo al dióxido de cloro como enjuague bucal sino como un posible irrigante para su uso en endodoncia.
- Se recomienda ampliar el número de muestras para mejorar los resultados.
- Se recomienda trabajar la muestra con pacientes que tengan un diagnóstico claro de enfermedad estomatológica, para evitar el sesgo en los resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol. 2005 Nov;43(11):5721-32.
- 2 Sachdeo A, Haffajee AD, Socransky SS. Biofilms in the edentulous oral cavity. J Prosthodont. 2008 Jul;17(5):348-56.
- 3 Faveri M, Feres M, Shibli JA, Hayacibara RF, Hayacibara MM, de Figueiredo LC. Microbiota of the dorsum of the tongue after plaque accumulation: an experimental study in humans. J Periodontol. 2006 Sep;77(9):1539-46.
- 4 Yaegaki K, Sanada K. Volatile sulfur compounds in mouth air from clinically healthy subjects and patients with periodontal disease. J Periodontal Res. 1992 Jul;27(4 Pt 1):233-8.
- 5 Koga C, Yoneda M, Nakayama K, et al. The Detection of *Candida* Species in Patients with Halitosis. Int J Dent. 2014 Aug;2014:857647.
- 6 Frandsen A. Dental plaque control measures and oral hygiene practices. Oxford: IRL Press; 1986. Mechanical oral hygiene practices: State-of-the science review. In: Loe H, Kleinman DV, editors; pp. 93–116.
- 7 Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? Periodontol. 2000;15:55–62.

- 8 Najafi MH, Taheri M, Mokhtari MR, et al. Comparative study of 0.2% and 0.12% digluconate chlorhexidine mouth rinses on the level of dental staining and gingival indices. *Dent Res J (Isfahan)* 2012; 9:305–08.
- 9 Noszticzius Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, et al. Chlorine Dioxide Is a Size-Selective Antimicrobial Agent. *PLoS ONE*. 2013; 8(11):e79157.
- 10 Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for Chlorine Dioxide and Chlorite. [Internet]. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2004. [Consultado 12 de junio 2017]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp160.pdf>
- 11 Yates R, Moran J, Addy M, Mullan PJ, Wade WG, Newcombe R. The comparative effect of acidified sodium chlorite and chlorhexidine mouthrinses on plaque regrowth and salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol*. 1997;24:603–609.
- 12 Lynch E, Sheerin A, Claxson AWD, Atherton MD, Rhodes CJ, Silwood CJL, Naughton DP, Grootveld M. Multicomponent spectroscopic investigations of salivary antioxidant consumption by an oral rinse preparation containing the stable free radical species chlorine dioxide (ClO₂) *Free Radical Res*. 1997;26:209–234.
- 13 Frascella J, Gilbert R, Fernandez P. Odor reduction potential of a chlorine dioxide mouthrinse. *J Clin Dent*. 1998;9:39–42.

- 14 Silwood CJ, Grootveld M, Lynch E. A multifactorial investigation of the ability of oral health care products (OHCPs) to alleviate oral malodour. *J Clin Periodontol*. 2001;28:634–641.
- 15 Frascella J, Gilbert RD, Fernandez P, Hendler J. Efficacy of a chlorine dioxide-containing mouthrinse in oral malodor. *Comp Cont Educ Dent*. 2000;21:241–248.
- 16 Takayama M, Sugimoto H, Mizutani S, Tanno K. Bactericidal activities of chlorine dioxide. *J Antibact Antifung Agents*. 1995;23:401–406.
- 17 Kimoto K, Hamada N, Ohno M, Furuya M, Kushida M, Usui S, Toda S, Kawamura K, Okudera H, Hirata Y, Umemoto T, Arakawa H. Study on the bactericidal effects of chlorine dioxide gas. *Bull Kanagawa Dent College*. 2004;32:77–82.
- 18 Taneja S, Mishra N, Malik S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: An *in vitro* study. *J Conserv Dent* . 2014 Nov; 17 (6): 541-5.
- 19 Ballal NV, Khandewal D, Karthikeyan S, Somayaji K, Foschi F. Evaluation of Chlorine Dioxide Irrigation Solution on the Microhardness and Surface Roughness of Root Canal Dentin. *Eur J Prosthodont Restor Dent* . 2015 Sep; 23 (3): P135-40.

- 20 Kamalasanan RR, Devarasanahalli SV, Aswathanarayana RM, Rashmi K, Gowda Y, Nadig RR. Effect of 5% Chlorine Dioxide Irrigant on Micro Push Out Bond Strength of Resin Sealer to Radicular Dentin: An In Vitro Study. J Clin Diagn Res. 2017 mayo; 11 (5): ZC49-ZC53.
- 21 Solumium [internet]. [Consultado 12 de junio 2017]. Disponible en: www.solumium.com
- 22 DioxiCare® System [internet]. [Consultado 12 de junio 2017]. Disponible en: <https://frontierpharm.com>
- 23 Oracare [internet]. [Consultado 12 de junio 2017]. Disponible en: <http://www.oracareproducts.com>
- 24 CloSYS [internet]. [Consultado 12 de junio 2017]. Disponible en: <https://closys.com>
- 25 UltraDEX [internet]. [Consultado 12 de junio 2017]. Disponible en: <https://www.ultradex.co.uk>
- 26 Freshclor [internet]. [Consultado 12 de junio 2017]. Disponible en: <http://www.freshclor.in>
- 27 Grootveld M, Silwood C, Gill D, Lynch E. Evidence for the microbicidal activity of a chlorine dioxide-containing oral rinse formulation in vivo. J Clin Dent. 2001;12(3):67-70.

- 28 Mohammad AR, Giannini PJ, Preshaw PM, Alliger H. Clinical and microbiological efficacy of chlorine dioxide in the management of chronic atrophic candidiasis: an open study. *Int Dent J*. 2004 Jun;54(3):154-8.
- 29 Wirthlin MR, Chen PK, Hoover CI. A laboratory model biofilm fermenter: design and initial trial on a single species biofilm. *J Periodontol*. 2005 Sep;76(9):1443-9.
- 30 Peruzzo DC, Jandiroba PF, Nogueira Filho Gda R. Use of 0.1% chlorine dioxide to inhibit the formation of morning volatile sulphur compounds (VSC). *Braz Oral Res*. 2007 Jan-Mar;21(1):70-4.
- 31 Marder MZ, Marder RW. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: experiences in a private practice. *Dent Today*. 2008 Oct;27(10):99-100, 102-3; quiz 103, 98.
- 32 Shinada K, Ueno M, Konishi C, Takehara S, Yokoyama S, Kawaguchi Y. A randomized double blind crossover placebo-controlled clinical trial to assess the effects of a mouthwash containing chlorine dioxide on oral malodor. *Trials*. 2008 Dec 9;9:71.
- 33 Shinada K, Ueno M, Konishi C, Takehara S, Yokoyama S, Zaitzu T, Ohnuki M, Wright FA, Kawaguchi Y. Effects of a mouthwash with chlorine dioxide on oral malodor and salivary bacteria: a randomized placebo-controlled 7-day trial. *Trials*. 2010 Feb 12;11:14.

- 34 Lundstrom JR, Williamson AE, Vilhauer AL, Dawson DV, Drake DR. Bactericidal activity of stabilized chlorine dioxide as an endodontic irrigant in a polymicrobial biofilm tooth model system. *J Endod*. 2010 Nov; 36(11):1874-78.
- 35 Drake D, Villhauer AL. An in vitro comparative study determining bactericidal activity of stabilized chlorinedioxide and other oral rinses. *J Clin Dent*. 2011;22(1):1-5.
- 36 Herczegh A, Ghidan A, Friedreich D, Gyurkovics M, Bendő Z, Lohinai Z. Effectiveness of a high purity chlorine dioxide solution in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2013 Mar;60(1):63-75.
- 37 Soares LG, Guaitolini RL, Weyne Sde C, Falabella ME, Tinoco EM, da Silva DG. The effect of a mouthrinse containing chlorine dioxide in the clinical reduction of volatile sulfur compounds. *Gen Dent* . 2013 Jul; 61 (4): 46-9.
- 38 Herczegh, A, Gyurkovics M, Agababyan H, Ghidán H, Lohinai Z. Comparing the efficacy of hyper-pure chlorine dioxide with other oral antiseptics on oral pathogen microorganisms and biofilm in vitro. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2013 Sep;60(3): 359-73.
- 39 Neetha JS, David K, Kamala DN, Ramya S. Comparative study of a stabilized 0.1 %chlorine dioxide with 0.2% chlorhexidine mouthrinse in inhibiting the formation of volatile Sulphur compounds (VSC). *X Indian Journal of Applied Research*. India 2013 Dec;3(12):424-427

- 40 Kuroyama I, Osato S, Ogawa T. The Bactericidal Effects of an Acidified Sodium Chlorite-Containing Oral Moisturizing Gel: A Pilot Study. *J Implants Oral*. 2013 Dec; 39(6):689-95.
- 41 Herczegh A, Gyurkovics M, Ghidan À, Megyesi M, Lohinai Z. Effect of dentin powder on the antimicrobial properties of hypochlorous acid and its comparison to conventional endodontic disinfecting agents. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2014 Jun;61(2):209-20.
- 42 Kim JS, Park JW, Kim DJ, Kim YK, Lee JY. Direct effect of chlorine dioxide, zinc chloride and chlorhexidine solution on the gaseous volatile sulfur compounds. *Acta Odontol Scand*. 2014 Nov;72(8):645-50.
- 43 Aung EE, Ueno M, Zaitsev T, Furukawa S, Kawaguchi Y. Effectiveness of three oral hygiene regimens on oral malodor reduction: a randomized clinical trial. *Trials*. 2015 Jan 27;16:31.
- 44 Yadav SR, Kini VV, Padhye A. Inhibition of Tongue Coat and Dental Plaque Formation by Stabilized Chlorine Dioxide Vs Chlorhexidine Mouthrinse: A Randomized, Triple Blinded Study. *J Clin Diagn Res*. 2015 Sep;9(9):ZC69-74.
- 45 Yeturu SK, Acharya S, Urala AS, Pentapati KC. Effect of Aloe vera, chlorine dioxide, and chlorhexidine mouth rinses on plaque and gingivitis: A randomized controlled trial. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2016 Jan-Apr;6(1):54-8.
- 46 Negroni M. *Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica*. 2da edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009. p. 225-244

- 47 Liébana J. Microbiología oral. 2da edición. España: Editorial McGraw Hill-Interamericana; 2002. p. 523-524
- 48 Lindhe J, Lang NK, Karring T. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 5ta edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009. p. 742, 747-748.
- 49 Alliger H. An Overall View of ClO₂. Frontier Pharmaceutical Inc, Melville, New York, USA; 2001.
- 50 Babor J, Ibarz J. Química General Moderna. 6ta edición. España: Editorial Marin; 1959.
- 51 Herczegh A. Az orális patogén mikroorganizmusok redukálásának lehetőségei, a klór-dioxid fogászati alkalmazhatósága [Doktori értekezés]. [Budapest]: Semmelweis Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola; 2014.
- 52 Solsona F, Méndez J. CEPIS; OPS; OMS; Environmental Protection Agency. Dióxido de cloro. En: Desinfección del agua. Lima; 2002. p. 125-137.
- 53 Deininger R, Ancheta A, Ziegler A. Chlorine dioxide. Ann Arbor, Michigan: School of Public Health. The University of Michigan, USA; 1998.
- 54 Junli H, Lihua C, Zhenye Z. Technical note the pattern of ClO₂ stabilized by Na₂CO₃/H₂O₂. Water Res. 2001 Jul;35(10):2570-3.

- 55 Chapnick A, Wilkins RJ. Surgical wound management in dogs using an improved stable chlorine dioxide antiseptic solution. J. Vet. Sci. Anim. Husb. 2014;1(4):403
- 56 Duraffourd C, D' Hervicourt L, Lapraz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1ra edición. España: Editorial Masson SA; 1986.

ANEXOS

ANEXO 1: INFORMACIÓN DEL ESTUDIO Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO

Título: “Actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado sobre flora mixta de dorso de lengua”.

Investigador: Betty Yuliana Guzmán Vazquez **Nº Celular:** 961701059

Institución: Facultad de Odontología Universidad Nacional Mayor de San Marcos

La información que se describe a continuación, describe la presente investigación y el papel que usted desempeña como participante de la misma.

Objetivo de la Investigación

Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua.

Participación en el Estudio

Recolección de muestra de saburra del dorso de la lengua.

Procedimientos que se seguirán durante la investigación

Usted será uno de los 18 pacientes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, cuya muestra de saburra lingual será recolectada en caldo TSB (Caldo Trypticase Soya) y caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón). Después de ello, dichas muestras se sembrarán con espátula Drigalsky en placas de Agar BHI (Infusión Cerebro Corazón). Luego mediante el método de Difusión en Agar, los discos de papel de filtro serán embebidos con 20 microlitros de las siguientes soluciones:

- 1.- Dióxido de cloro 0,03 %
- 2.- Dióxido de cloro 0,12 %
- 3.- Dióxido de cloro 0,3 %
- 4.- Clorhexidina 0,12 % (control positivo)
- 5.- Agua estéril (control negativo)

Los discos serán colocados con pinzas estériles en las placas y se procederá a incubarlas a 37 °C por 24 horas en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis para su posterior lectura y medición de sus halos de inhibición.

Confidencialidad:

La ficha de datos en la cual usted se identifica y el consentimiento informado que firmó serán revisados por el investigador. Los resultados de esta investigación podrán presentarse para su exposición, sin embargo, su identidad no será divulgada en tales presentaciones.

Consentimiento:

He leído y conversado con el investigador sobre esta hoja de información y formato de consentimiento y entiendo el contenido. Por tanto doy consentimiento voluntario para participar en la investigación.

Nombres y Apellidos

Firma

Fecha: ____/____/____

ANEXO 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA CONDICIONES DE AEROBIOSIS

La medición de los halos de inhibición será en milímetros (mm.), se medirán en las 18 placas con medio de cultivo Agar BHI (Infusión Cerebro Corazón). Cada placa con 5 discos de papel filtro embebidos con dióxido de cloro estabilizado 0,30 %; 0,12 %; 0,03 %; como control negativo agua destilada y como control positivo Clorhexidina al 0,12 %, respectivamente.

		Concentración de dióxido de cloro estabilizado			CHx 0,12 %	Agua destilada
		0,30 %	0,12 %	0,03 %	C(+)	C(-)
Halo de inhibición (mm)	Placa N°1					
	Placa N°2					
	Placa N°3					
	Placa N°4					
	Placa N°5					
	Placa N°6					
	Placa N°7					
	Placa N°8					
	Placa N°9					
	Placa N°10					
	Placa N°11					
	Placa N°12					
	Placa N°13					
	Placa N°14					
	Placa N°15					
	Placa N°16					
	Placa N°17					
	Placa N°18					

ANEXO 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA CONDICIONES DE ANAEROBIOISIS FACULTATIVA

La medición de los halos de inhibición será en milímetros (mm.), se medirán en las 18 placas con medio de cultivo Agar BHI (Infusión Cerebro Corazón). Cada placa con 5 discos de papel filtro embebidos con dióxido de cloro estabilizado 0,30 %; 0,12 %; 0,03 %; como control negativo agua destilada y como control positivo Clorhexidina al 0,12 %, respectivamente.

		Concentración de dióxido de cloro estabilizado			CHx 0,12 %	Agua destilada
		0,30 %	0,12 %	0,03 %	C(+)	C(-)
Halo de inhibición (mm)	Placa N°1					
	Placa N°2					
	Placa N°3					
	Placa N°4					
	Placa N°5					
	Placa N°6					
	Placa N°7					
	Placa N°8					
	Placa N°9					
	Placa N°10					
	Placa N°11					
	Placa N°12					
	Placa N°13					
	Placa N°14					
	Placa N°15					
	Placa N°16					
	Placa N°17					
	Placa N°18					

ANEXO 4: FICHA TÉCNICA DEL DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO

JUANDY E.I.R.L Las Redes 327, Las Lagunas – La Molina Teléfono: 966-397320 / 99573-1985 e-mail: vrzamudio@hotmail.com	DIOXILL PLUS (DIOXIDO DE CLORO AL 5%)	Versión: 01 Fecha: Enero 2011
---	--	----------------------------------

BACTERICIDA, FUNGICIDA, VIRUCIDA, ALGUICIDA

Descripción:



DIOXILL PLUS, es una solución de Dióxido de Cloro al 5%. Posee la propiedad de ser uno de los desinfectantes más efectivos contra bacterias, mohos, levaduras, virus, algas y protozoarios, utilizado en la industria de alimentos y bebidas.

DIOXILL PLUS, es insípido, no tóxico, no corrosivo y no inflamable. Es amigable con el medio ambiente.



DIOXILL PLUS, basa su composición química en la aprobación FDA capítulo 21 CFR 178.1010, y FDA sección 173.300 y 173.325, que permite su aplicación en el lavado de frutas y verduras; así como también, su aplicación en la industria cárnica, láctea, agrícola, agua,

DIOXILL PLUS, cuenta con Autorización Sanitaria Vigente otorgada por el Ministerio de Salud del Perú a través de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Resolución Directoral N° 5876-2015/DIGESA/SA emitida el 07 de Octubre del 2015 (3 años de vigencia)

Propiedades Físicas y Químicas:

Estado Físico	:	Líquido
Color	:	Amarillo claro
Olor	:	Ligeramente clorado
% Dióxido de Cloro	:	5.3 ± 0.2
Densidad a 20°C	:	1.10 ± 0.05
pH a 20°C	:	12.30 ± 0.5
Explosividad	:	No explosivo
Solubilidad	:	Completamente soluble en agua
Estabilidad	:	1 año

Control Microbiológico:

Disminuye la carga microbiana y su acción es prolongada, debido a su mecanismo automático de liberación de Dióxido de Cloro. Este mecanismo otorga completa protección contra los microorganismos mientras el Dióxido de Cloro esté presente.

El Dióxido de Cloro estabilizado tiene una acción selectiva o atractiva para la materia orgánica proteínica que causa la liberación del Dióxido de Cloro, reduce al mínimo el crecimiento de microorganismos. Mientras no haya crecimiento bacteriano que acidifique el medio para causar su liberación, permanecerá inerte. Este efecto residual actúa como inhibidor del crecimiento de microorganismos.

Ventajas que da el uso del DIOXILL PLUS:

- 1.- Amigable con el Medio Ambiente
- 2.- Fácil manejo y aplicación.
- 3.- No es tóxico.
- 4.- No produce Trihalometanos (moléculas cancerígenas)
- 5.- No deja olor ni sabor.
- 6.- No irrita y no desprende gases.
- 7.- Soluble en agua completamente.
- 8.- No es corrosivo en las cantidades recomendadas.

Reto microbiano:

Efectiva acción microbiana del 99.9999% sobre:

<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Clostridium botulinum</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Salmonella sp</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>E. coli 0157:H7</i>
Hongos	Levaduras osmófilas

Recomendaciones de uso:

Desinfección de equipos	:	25 – 50 ppm
Desinfección de utensilios	:	50 -100 ppm
Desinfección frutas y verduras	:	50 – 80 ppm
Desinfección de carcasas de vacuno	:	25 – 50 ppm
Desinfección de carcasas de cerdo	:	50 -100 ppm
Desinfección de carcasas de aves	:	10 – 20 ppm
Desinfección de Pescados y mariscos	:	20 – 40 ppm
Desinfección de ambientes	:	100 -150 ppm
Potabilización de agua	:	1 – 2 ppm

Tabla de Diluciones x 100 litros de agua

DIOXILL PLUS (ml)	ppm
4.00	2
10.00	5
100.00	50
200.00	100
300.00	150
400 .00	200
2000.00	1000

Modo de aplicación:

Aplicación directa por enjuague

Inmersión en la solución sanitizante

Aplicación con mochila pulverizadora

Aplicación con dosificadores

Presentación

Envases de polietileno de alta densidad de 30, 25, 20, 15, 10 y 6 litros

ANEXO 5: HOJA DE SEGURIDAD DEL DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO

JUANDY E.I.R.L Las Redes 327, Las Lagunas – La Molina Teléfono: 966-397320 / 99573-1985 e-mail:vrzamudio@hotmail.com	DIOXILL PLUS (DIOXIDO DE CLORO AL 5%)	Versión: 01 Fecha: Enero 2011
--	--	----------------------------------

HOJA DE SEGURIDAD DE MATERIALES (MSDS)

SECCION 1: PRODUCTO QUIMICO E IDENTIFICACION DE LA COMPAÑIA

Nombre: DIOXILL PLUS
Uso: Sanitizante

Identificación del Fabricante / Proveedor

Fabricante: Juandy E.I.R.L.
Dirección de la planta: Mz. K, Lt. 18, Urbanización Covitimar–Santa Rosa–Lima–Perú

SECCION 2: COMPOSICION / INFORMACION DE LOS INGREDIENTES

COMPONENTES	PROPORCION
Dióxido de cloro	50 g/l
Carbonato de Sodio	1 g/l
Agua desionizada csp	1 l

SECCION 3: INFORMACION DE LOS PELIGROS

PIEL: En contactos prolongados con la piel el producto puro, puede causar irritación.
OJOS: Puede causar irritación.
INHALACION: Puede causar ligera irritación.
INGESTIÓN: Puede causar gastritis, náusea, vómitos y diarrea.

CLASIFICACION NFPA PARA RIESGOS



AZUL: **SALUD**

0= NO TOXICO
1=LEVEMENTE DAÑINO
2=DAÑINO
3=ALTAMENTE DAÑINO
4=LETAL

ROJO: **INFLAMACION**

0=NO INFLAMABLE
1=SOBRE 100°C
2=SOBRE 40°C
3=SOBRE 25°C

AMARILLO: **REACTIVIDAD**

0=NULA
1=INESTABLE AL CALOR
2=REACTIVO AL CALOR
3=REACTIVO AL CALOR E IMPACTOS

BLANCO: **RIESGO ESPECÍFICO**

Ox = OXIDANTE
ACID = ACIDO
ALK = ALCALINO

SECCION 4: MEDIDAS DE PRIMEROS AUXILIOS

PIEL: Lavar la piel por lo menos 15 minutos con abundante agua y jabón. Retirar la ropa contaminada y el calzado. Transporte a la persona al médico inmediatamente si la irritación a la piel persiste.

OJOS: Mantener los ojos abiertos y lavar con abundante agua por lo menos 15 minutos. Asegurar el lavado debajo de los párpados pero ocasionalmente levantar los párpados. No intente retirar los lentes de contacto a menos que este entrenado. Transporte al médico inmediatamente si la irritación a los ojos persiste.

INHALACION: Si hubiera emanaciones de gas y este fuera inhalado, retirar a la persona a un lugar ventilado.

INGESTIÓN: Lavar inmediatamente la boca con abundante agua. No induzca al vómito. Mantener al paciente en reposo y acuda al médico.

SECCION 5: MEDIDAS PARA EXTINCIÓN DE INCENDIOS

Dioxill Plus, no es inflamable, en caso de fuego, se pueden formar emanaciones de dióxido de cloro explosivas; por lo, tanto sugerimos que este producto no se seque en su ropa. Material oxidante, evite el contacto con ácidos, agentes reductores u otros oxidantes.

Utilice el agua como medio para sofocar un incendio.

SECCION 6: MEDIDAS EN CASO DE DERRAMES ACCIDENTALES

Precaución personal:

Utilice equipos de protección personal adecuada (resistentes a químicos).

Métodos de limpieza

Para grandes derrames absorber con tierra o arena y juntar en un envase, rotular y colocar en un lugar para su disposición. Para pequeños derrames enjuagar con agua y eliminar por drenajes autorizados.

SECCION 7: MANIPULACION Y ALMACENAMIENTO

ALMACENAJE: Almacenar en ambiente ventilado, bajo sombra, mantener los envases bien cerrados y alejados del calor. No inhalar del depósito. No almacenar cerca a productos ácidos, materiales reductores, oxidantes ni solventes orgánicos.

MANIPULEO: Evitar contacto con la piel u ojos, usando implementos de seguridad adecuados para manipulación de productos químicos

EQUIPOS DE PROTECCION: Guantes de jebe o neopreno, lentes protectores.

SECCION 8: CONTROL EN CASO DE EXPOSICION Y PROTECCION PERSONAL

OJOS: Usar gafas protectoras.

PIEL: Utilizar ropa resistente a álcalis. Botas de goma y protector de brazos y piernas.

PROTECCION RESPIRATORIA: Usar mascarilla.

MANOS: Utilizar guantes resistentes a álcalis

SECCION 9: PROPIEDADES FISICAS Y QUÍMICAS

Estado Físico	:	Líquido
Color	:	Amarillo claro
Olor	:	Ligeramente clorado
% Dióxido de Cloro	:	5.3 ± 0.2
Densidad a 20°C	:	1.10 ± 0.05
pH a 20°C	:	12.30 ± 0.05
Explosividad	:	No explosivo
Solubilidad	:	Completamente soluble en agua
Estabilidad	:	1 año

SECCION 10: ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

Estabilidad: El producto es estable.

Riesgos de incompatibilidad: Evitar contacto con reductores, oxidantes, ácidos y donadores de cloro los cuales liberaran dióxido de cloro.

Riesgos de descomposición: El vapor generado a altas temperaturas (Descomposición Térmica) puede liberar gases irritantes de dióxido de cloro.

Riesgo de polimerización: No ocurre.

Recomendaciones especiales: No presenta.

SECCION 11: INFORMACION TOXICOLOGICA

Toxicidad Oral Aguda (DL_{50}) > 2000 mg/kg peso corporal/día.

Toxicidad Oral Dermal (DL_{50}) > 2000 mg/kg peso corporal/día.

Toxicidad Oral Inhalatoria (CL_{50}) > 5 mg/l de aire.

Irritación Cutánea: Levemente Irritante.

Irritación Ocular: Levemente Irritante.

Sensibilización cutánea: No Sensibilizante

Clasificación Toxicológica según la OMS: Ligeramente peligroso

SECCION 12: INFORMACIÓN ECOLÓGICA

Producto tóxico para los peces y vida acuática, se recomienda no verter el producto puro directamente en el drenaje.

SECCION 13: INFORMACION DE DISPOSICION DE DESECHOS

Para la eliminación de desechos seguir la regulación vigente para cada país.

En el Perú el ente regulador es la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), mediante la Ley General de Residuos Sólidos N° 27314 y su Reglamento N° 057-2004-PCM

SECCION 14: INFORMACION DE TRANSPORTE

Clasificación de Riesgo NFPA:

Salud: 1.

Inflamabilidad: 0

Reactividad: 0

Riesgo específico: Alcalino.

Regulado como material peligroso por DOT, IMO, ó IATA., para transporte aéreo.

Solo aceptado para transporte marítimo o terrestre.

SECCION 15: INFORMACION REGULATORIA
--

Ley General de Salud N° 26842 del 26 de Julio de 1,997. Artículos 96,97 “Normas Técnicas Sobre agentes Químicos en Ambientes de Trabajo”.

SECCION 16: OTRA INFORMACION

Este producto debe ser transportado, almacenado, manejado y utilizado de acuerdo con las prácticas correctas de higiene industrial y respetando las normas ambientales vigentes. La información aquí contenida está basada en el estado actual de nuestro conocimiento y pretende describir las características del producto desde el punto de vista de las exigencias ambientales y de seguridad. Por lo tanto, no deben ser tomadas como garantía de propiedades específicas.

DIOXILL PLUS cuenta con Autorización Sanitaria Vigente otorgada por el Ministerio de Salud del Perú a través de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA).

Resolución Directoral N° 5876-2015/DIGESA/SA. Emitida el 07 de Octubre del 2015 (3 años de vigencia)

ANEXO 6: CERTIFICADO DE LAS TIRAS REACTIVAS PARA DIÓXIDO DE CLORO



CERTIFICATE OF ANALYSIS

LaMotte Code: 3002
Description: Chlorine Dioxide HR Test Strips
Lot Number: 54514
Expiration: 02/2018

Contents:

<u>Code Number</u>	<u>Lot Number</u>
2979-CARD	Z3050731A

<u>Test (ppm Chlorine Dioxide)</u>	<u>Specifications</u>	<u>Results</u>
0 ppm	0 ppm	pass
50 ppm	35 – 75 ppm	pass
250 ppm	175 – 375 ppm	pass
500 ppm	375 – 500 ppm	pass

This product has been tested by Quality Control and meets established specifications. All results fall within +/- one half unit on the currently approved color chart.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Susan B. Schaubert".

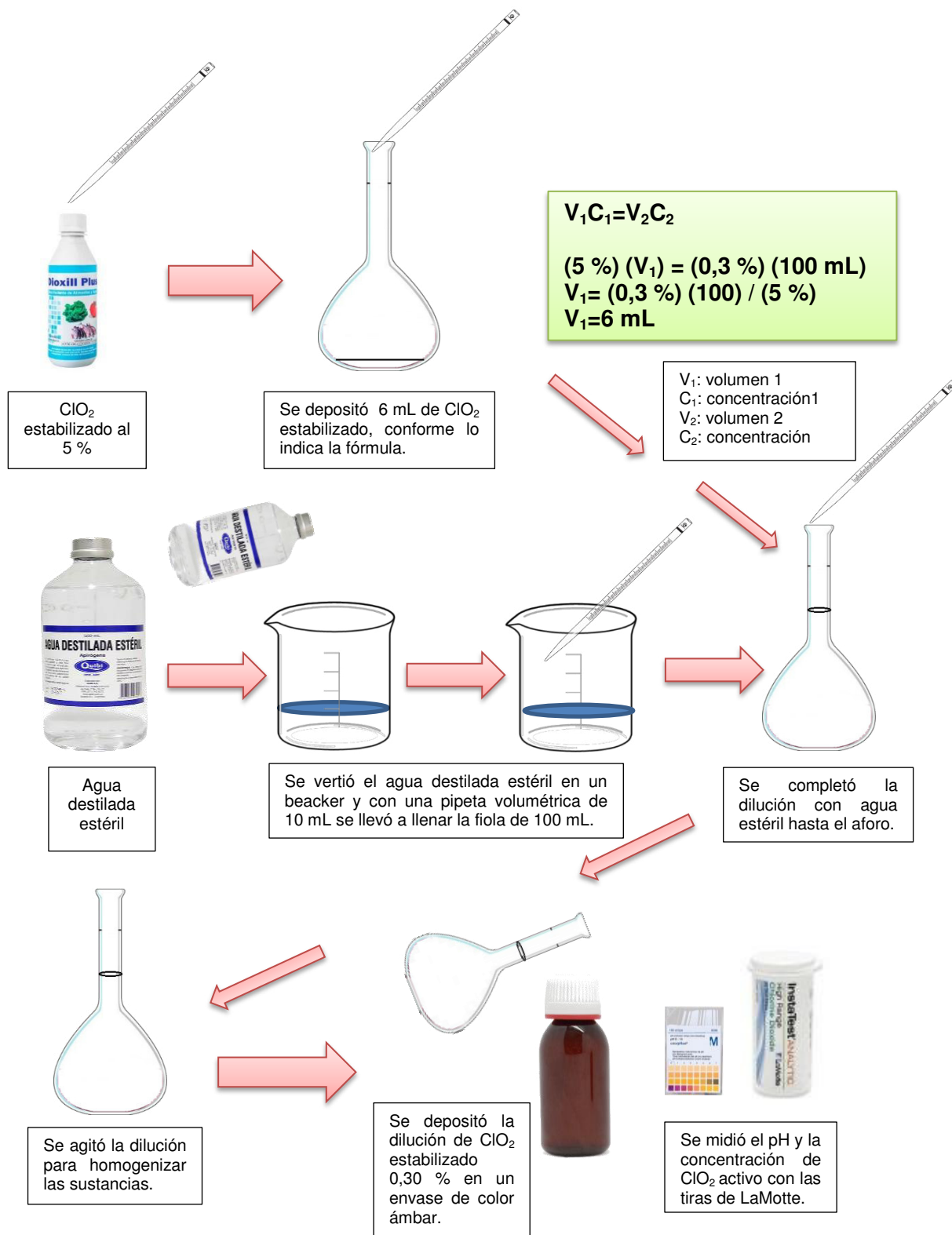
Approved: _____
Susan B. Schaubert
QA Manager
11/23/2015

Helping people solve analytical challenges since 1919.

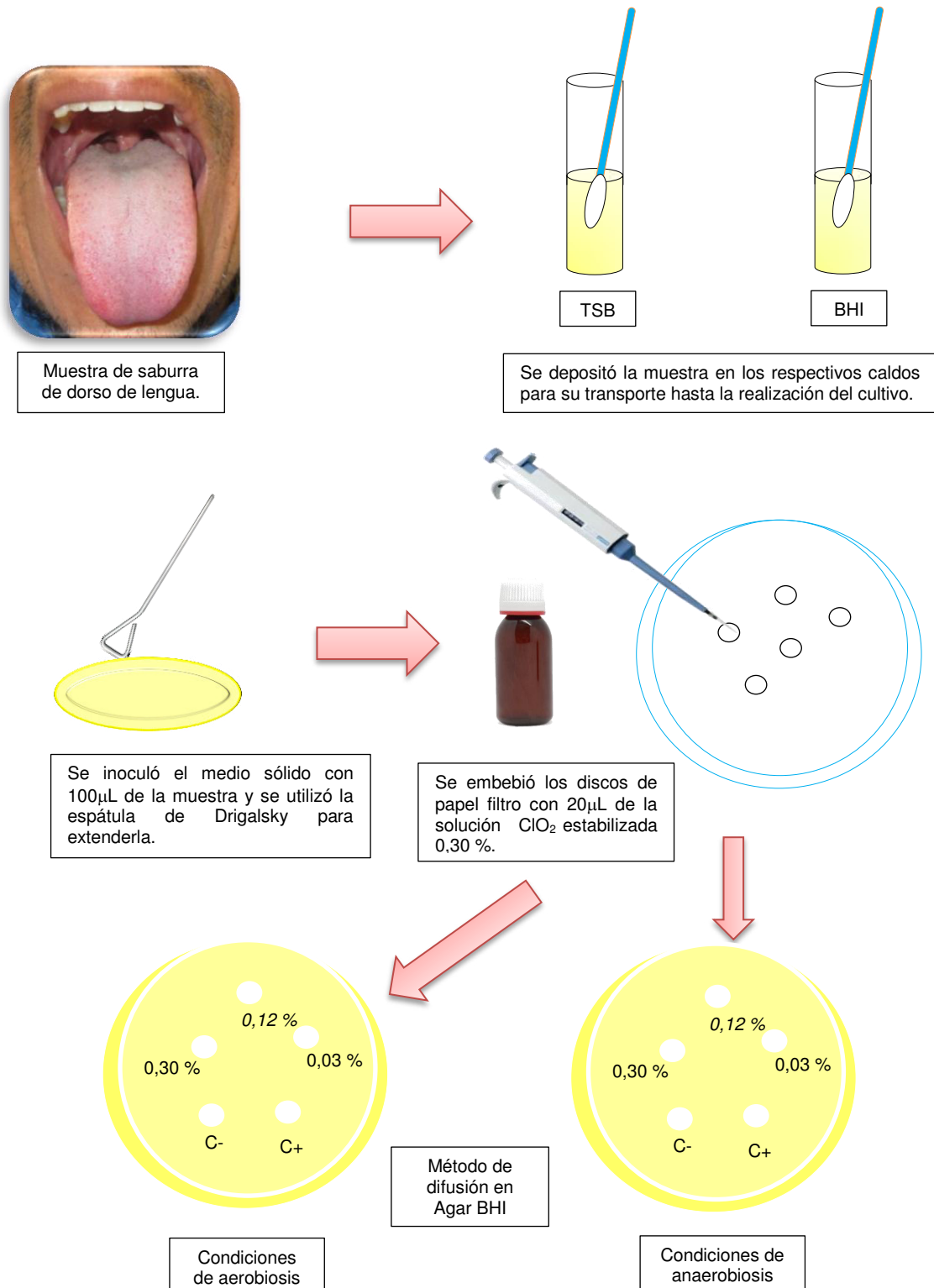
802 Washington Avenue • PO Box 329 • Chestertown • Maryland • 21620 • USA
p 410-778-3100 • f 410-778-6394 • www.lamotte.com

ANEXO 7: FLUXOGRAMA DE PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

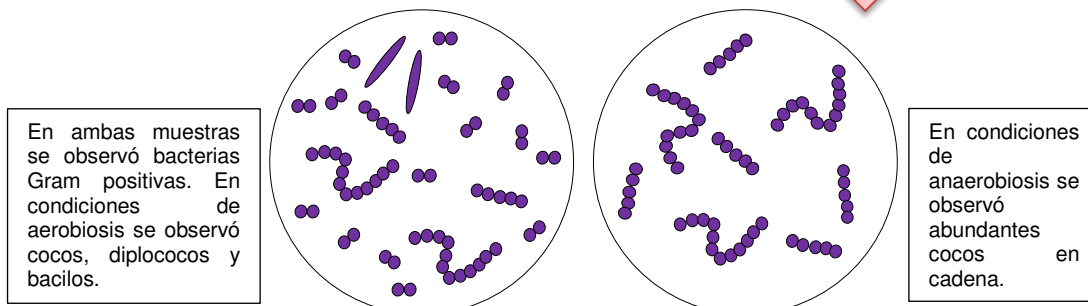
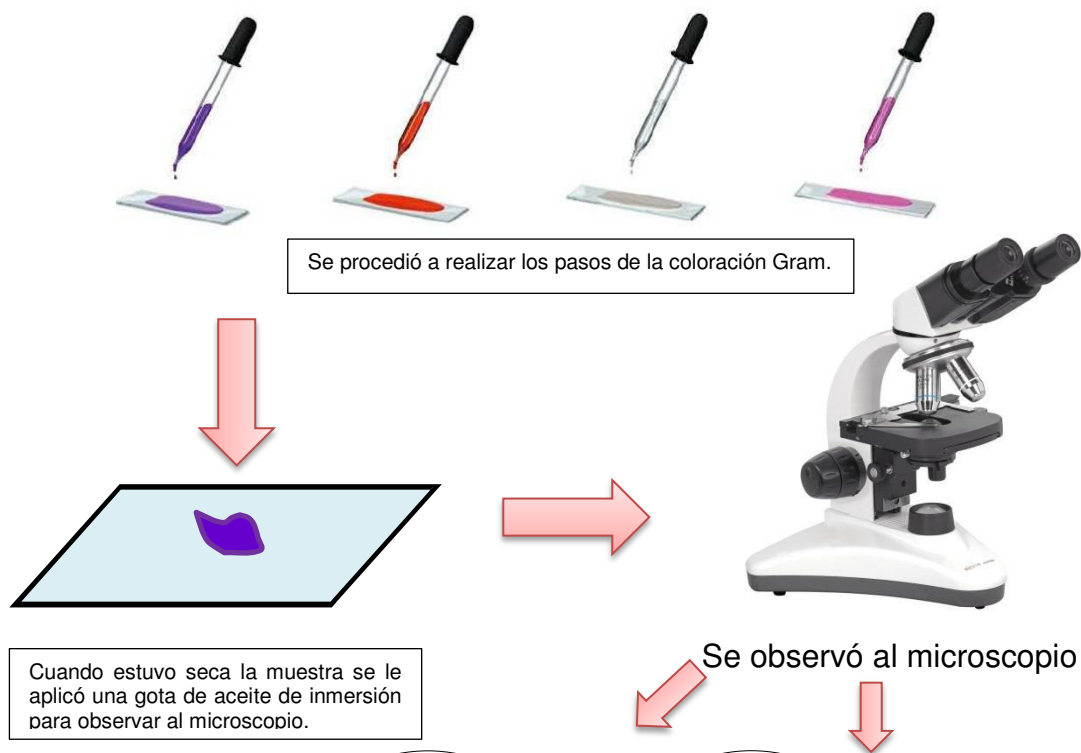
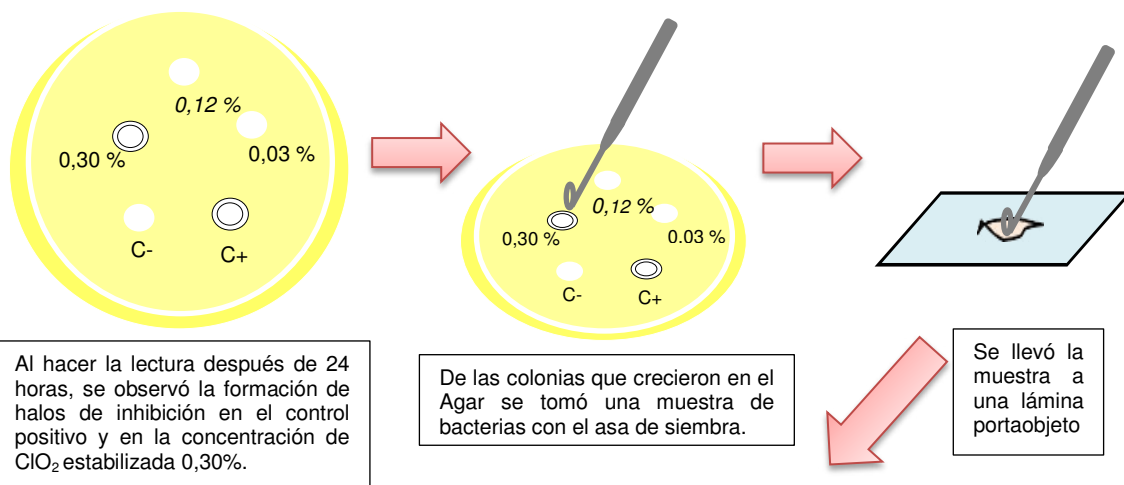
1. OBTENCIÓN DEL DIÓXIDO DE CLORO (ClO₂) ESTABILIZADO



2. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE SABURRA LINGUAL

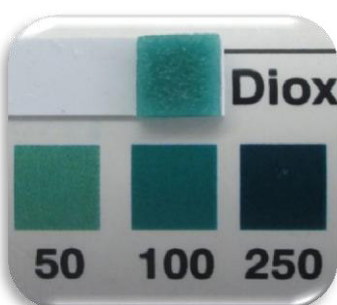
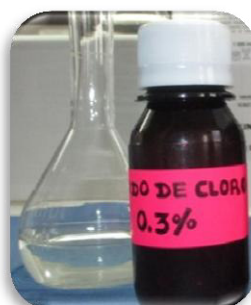
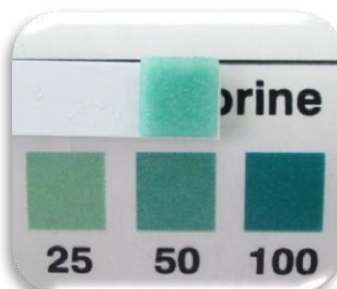
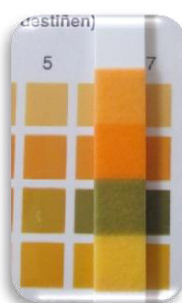


3. LECTURA DE HALOS DE INHIBICIÓN Y COLORACIÓN GRAM

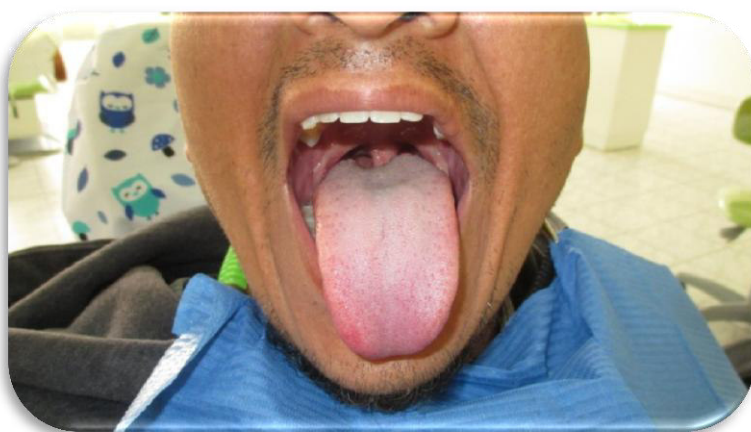


ANEXO 8: REGISTRO FOTOGRÁFICO

Preparación de las diluciones de dióxido de cloro estabilizado a las concentraciones de 0.03%, 0.12% y 0.3%

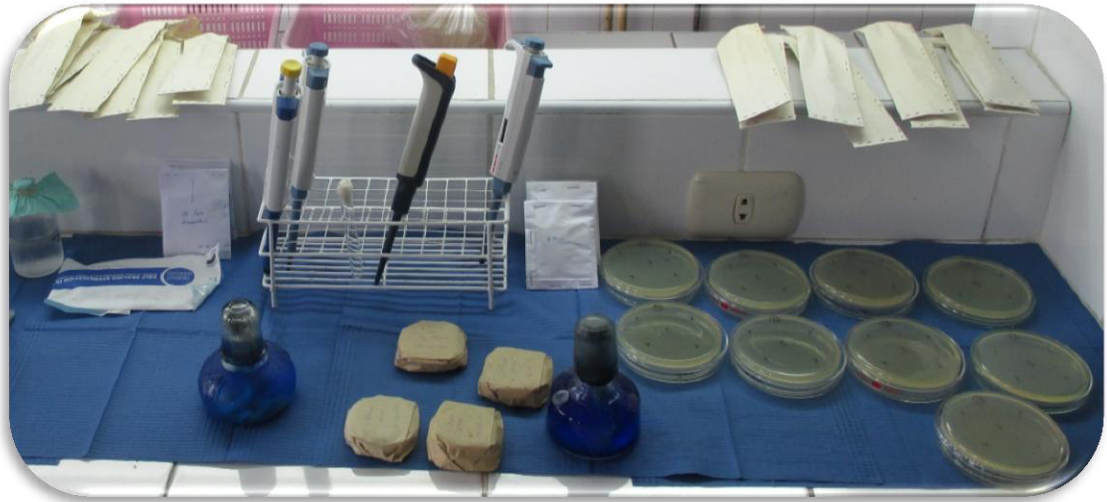


Obtención de la muestra de saburra de lengua

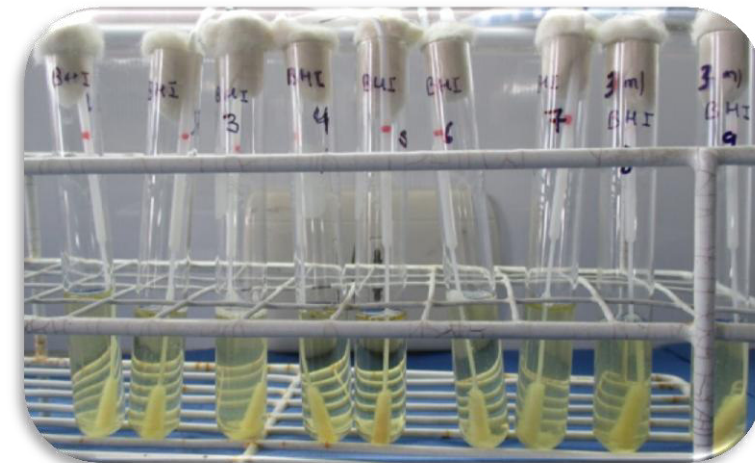
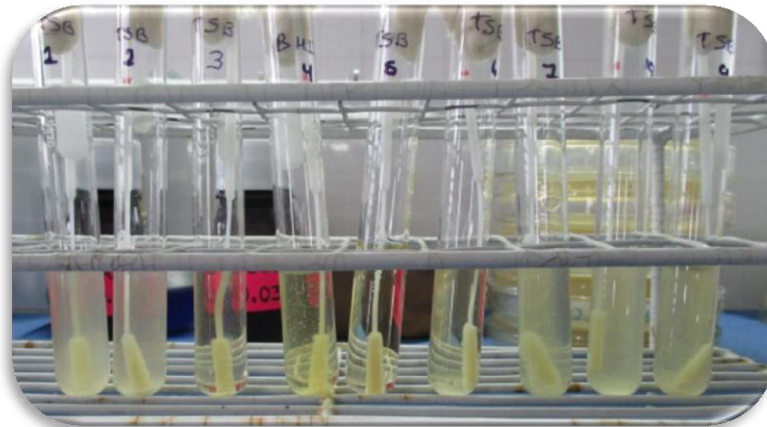


Procedimiento del método de difusión en Agar

Mesa de trabajo



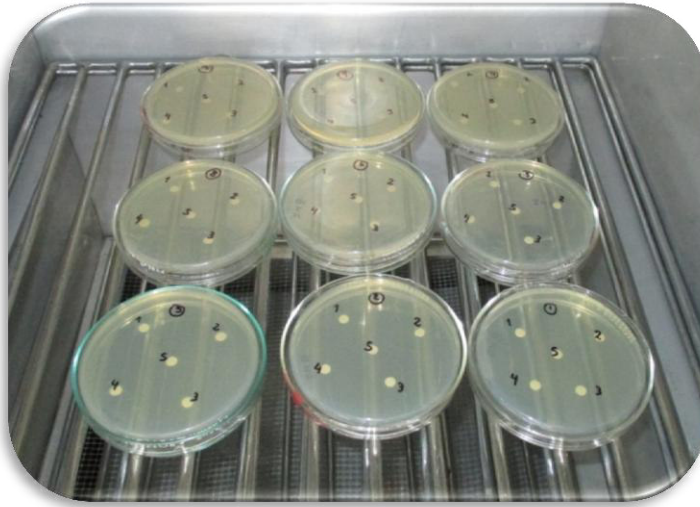
Medio de transporte 36 caldos: 18 de TSB y 18 de BHI



Inoculación de la muestra en medio Agar BHI y colocación de los discos de papel filtro embebidos con las muestras correspondientes



Incubación en condiciones de aerobiosis



Incubación en condiciones de anaerobiosis facultativa

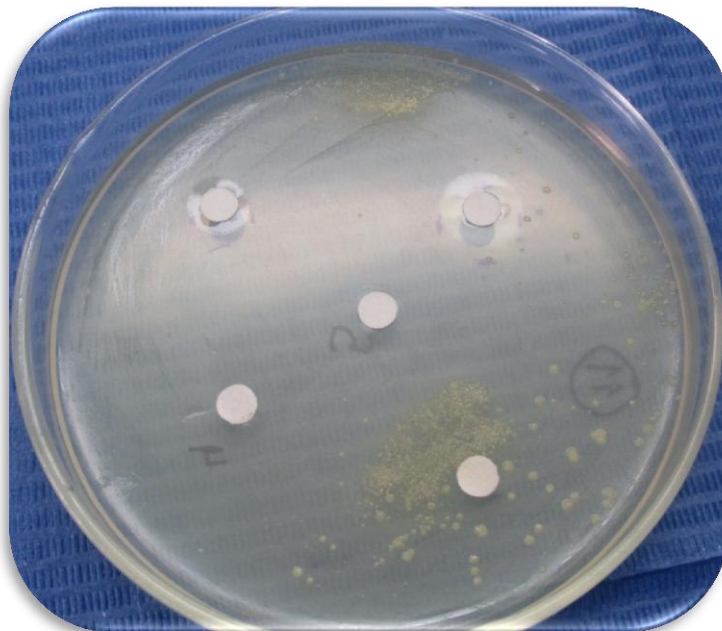


Halos de inhibición formados después de 24 horas

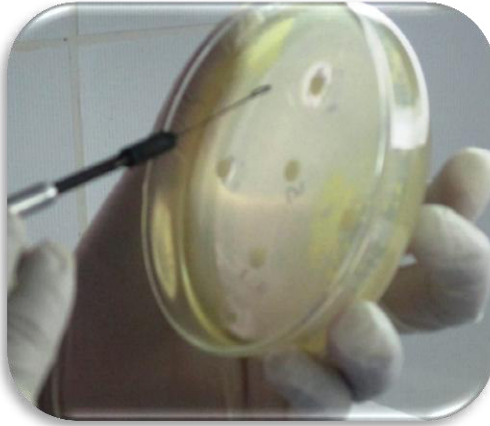
Condiciones de anaerobiosis



Condiciones de aerobiosis



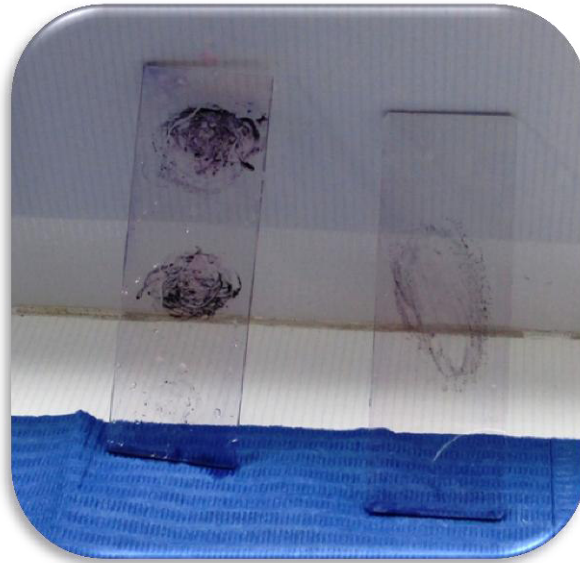
Procedimiento de la Tinción Gram



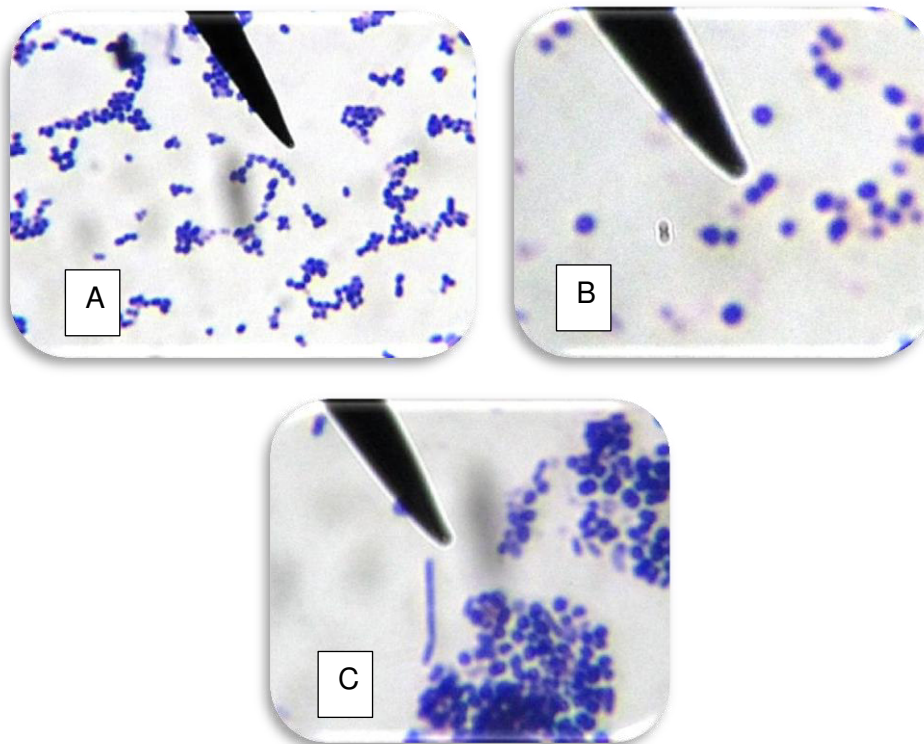
Se realizó dos frotis, uno proveniente del cultivo de Agar BHI en condiciones de aerobiosis y el otro del cultivo de Agar BHI en condiciones de anaerobiosis facultativa; luego se procedió a realizar la Coloración Gram, respectivamente.



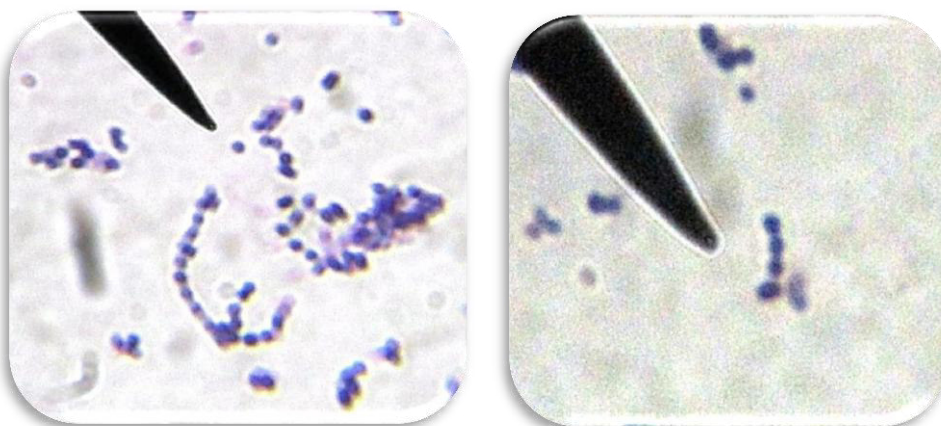
Se procedió a realizar la Tinción Gram.



Al llevar las muestras de las bacterias al microscopio se observó que estos pertenecían al grupo de bacterias Gram positivos. Esto se dio tanto para las bacterias que crecieron en condiciones de aerobiosis como las de anaerobiosis.



En el grupo de bacterias que crecieron en condiciones de aerobiosis se encontró: A: cocos en cadena, B: diplococos y C: bacilos.



En el grupo de bacterias que crecieron en condiciones de anaerobiosis se encontró: abundantes cocos en cadena.

ANEXO 9: ESTADÍSTICOS UTILIZADOS

Estadísticos Descriptivos

		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
Halo inhibición (aerobiosis)	Control Negativo	18	5.000	0.0000	0.0000	5.0	5.0
	Control Positivo	18	12.000	0.9075	0.2139	10.0	13.0
	Dióxido de cloro 0.3%	18	8.111	2.3983	0.5653	5.0	12.0
	Dióxido de cloro 0.12%	18	5.000	0.0000	0.0000	5.0	5.0
	Dióxido de cloro 0.03%	18	5.000	0.0000	0.0000	5.0	5.0
	Total	90	7.022	2.9980	0.3160	5.0	13.0
Halo inhibición (anaerobiosis facultativa)	Control Negativo	18	5.000	0.0000	0.0000	5.0	5.0
	Control Positivo	18	11.333	1.4142	0.3333	8.0	13.0
	Dióxido de cloro 0.3%	18	7.222	2.0452	0.4821	5.0	10.0
	Dióxido de cloro 0.12%	18	5.000	0.0000	0.0000	5.0	5.0
	Dióxido de cloro 0.03%	18	5.000	0.0000	0.0000	5.0	5.0
	Total	90	6.711	2.7076	0.2854	5.0	13.0

Prueba no paramétrica

Prueba de kruskal-wallis para muestras independientes

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución del Halo de inhibición (aerobiosis) es la misma entre las categorías de Grupo	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	0.001	Rechazar la hipótesis nula
2	La distribución del Halo de inhibición (anaerobiosis facultativa) es la misma entre las categorías de Grupo	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	0.001	Rechazar la hipótesis nula

Estadísticos de prueba

	Halo inhibición (aerobiosis)	Halo inhibición (anaerobiosis)
Chi-cuadrado	77,978	74,303
GL	4	4
Sig. asintótica	,000	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Grupo

Rangos

	Grupo	N	Rango promedio
Halo inhibición (aerobiosis)	Control negativo	18	29,50
	Control positivo	18	80,47
	Dióxido de cloro 0.3%	18	58,53
	Dióxido de cloro 0.12%	18	29,50
	Dióxido de cloro 0.03%	18	29,50
	Total	90	
Halo inhibición (anaerobiosis)	Control negativo	18	31,00
	Control positivo	18	80,67
	Dióxido de cloro 0.3%	18	53,83
	Dióxido de cloro 0.12%	18	31,00
	Dióxido de cloro 0.03%	18	31,00
	Total	90	

Comparación entre parejas de grupo (Post-Hoc)-condición aerobiosis

Muestra1	Muestra 2	Estadístico de contraste	Desv.Estadístico de contraste	Sig.	Sig.ajust
Control negativo	Dioxido de cloro 0.12%	0	0	1.000	1.000
Control negativo	Dioxido de cloro 0.03%	0	0	1.000	1.000
Control negativo	Dioxido de cloro 0.3%	-22.833	-3.899	0.001	0.001
Control negativo	Control positivo	-50.972	-6.847	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.12%	Dioxido de cloro 0.03%	0	0	1.000	1.000
Dioxido de cloro 0.12%	Dioxido de cloro 0.3%	29.028	3.899	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.12%	Control positivo	50.972	6.847	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.03%	Dioxido de cloro 0.3%	29.028	3.899	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.03%	Control positivo	50.972	6.847	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.3%	Control positivo	21.944	2.948	0.003	0.032

Comparación entre parejas de grupo (Post-Hoc)-condición anaerobiosis facultativa

Muestra1	Muestra 2	Estadístico de contraste	Desv.Estadístico de contraste	Sig.	Sig.ajust
Control negativo	Dioxido de cloro 0.12%	0	0	1.000	1.000
Control negativo	Dioxido de cloro 0.03%	0	0	1.000	1.000
Control negativo	Dioxido de cloro 0.3%	-22.833	-3.162	0.002	0.001
Control negativo	Control positivo	-49.667	-6.879	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.12%	Dioxido de cloro 0.03%	0	0	1.000	1.000
Dioxido de cloro 0.12%	Dioxido de cloro 0.3%	22.833	3.162	0.002	0.001
Dioxido de cloro 0.12%	Control positivo	49.667	6.879	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.03%	Dioxido de cloro 0.3%	22.833	3.162	0.002	0.001
Dioxido de cloro 0.03%	Control positivo	49.667	6.879	0.001	0.001
Dioxido de cloro 0.3%	Control positivo	26.833	3.716	0.001	0.032